

Eugénia Teresa Ramos Simões

Metais pesados no leite e produtos lácteos: segurança e análise

Faculdade de Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2024

Eugénia Teresa Ramos Simões

Metais pesados no leite e produtos lácteos: segurança e análise

Faculdade de Ciências da Saúde

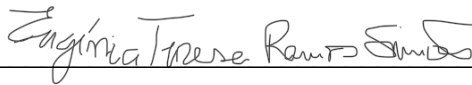
Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2024

Eugénia Teresa Ramos Simões

Metais pesados no leite e produtos lácteos: segurança e análise

Atesto a originalidade do trabalho



(Eugénia Teresa Ramos Simões)

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte de requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, sob a orientação da Professora Doutora Renata Souto e coorientação da Professora Doutora Rita Catarino.

Porto, 2024

RESUMO

O leite e os produtos lácteos desempenham um papel fundamental na dieta humana, fornecendo nutrientes valiosos (proteínas, cálcio, vitaminas, entre outros) e contribuindo para a saúde em geral.

No entanto, nas últimas décadas, a significativa contaminação do solo, da água e do ar, em consequência do aumento da população e da expansão industrial e agrícola, conduziu à presença de vários tipos de contaminantes nestes produtos o que suscita uma preocupação crescente devido aos potenciais riscos para a saúde pública.

Os metais pesados, como o chumbo, o cádmio, o mercúrio e o arsénio, são alguns desses contaminantes. Provenientes de fontes naturais e antropogénicas, podem entrar na cadeia alimentar e estar presente no leite e derivados com eventuais consequências para a saúde, particularmente quando há exposição durante períodos prolongados. Os efeitos vão desde distúrbios neurológicos e de desenvolvimento nas crianças até ao aumento do risco de problemas oncológicos e lesões orgânicas nos adultos.

Com este trabalho de revisão bibliográfica pretende-se fornecer uma visão geral e atualizada sobre a presença de metais pesados no leite e produtos lácteos, dando ênfase à segurança desses alimentos e à importância da sua contínua monitorização, com o desenvolvimento de técnicas de análise para a deteção destes contaminantes. São abordados os principais métodos de análise destas espécies, incluindo técnicas analíticas avançadas, como a espectroscopia de absorção atómica, a espectroscopia de emissão ótica acoplada a plasma indutivo e a espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo, métodos que permitem a quantificação destas espécies a níveis vestigiais salvaguardando, em última análise, a saúde e o bem-estar dos consumidores.

Palavras-chave: leite; produtos lácteos; metais pesados; segurança; deteção.

ABSTRACT

Milk and dairy products play a fundamental role in the human diet, providing valuable nutrients (protein, calcium, vitamins, among others) and contributing to general health.

However, the significant contamination of soil, water and air in recent decades, as a result of population growth and industrial and agricultural expansion, has led to the presence of several types of contaminants in these products, which raised an increasing concern due to the potential risks they pose to public health.

Heavy metals, such as lead, cadmium, mercury and arsenic, are some of these contaminants. Coming from natural and anthropogenic sources, they can enter the food chain and be present in milk and dairy products with possible health risks, particularly when there is prolonged exposure. The effects range from neurological and developmental disorders in children to an increased risk of oncological problems and organic damage in adults.

This literature review aims to provide a general and updated view of the presence of heavy metals in milk and dairy products, emphasizing the safety of these foods and the importance of their continuous monitoring with the development of analytical methods for detection of these contaminants. The main methods of analysis of these species are discussed, including advanced analytical techniques, such as atomic absorption spectroscopy, inductively coupled plasma optical emission spectroscopy and inductively coupled plasma mass spectrometry, methods that allow the quantification of these species at trace levels, ultimately safeguarding the health and well-being of consumers.

Keywords: milk; dairy products; heavy metals; safety; detection.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço à minha orientadora Professora Doutora Renata Souto e à minha coorientadora Professora Doutora Rita Catarino pela disponibilidade para o esclarecimento de dúvidas, o apoio, os conhecimentos transmitidos e a supervisão ao longo da realização deste trabalho.

Agradeço também, à entidade patronal da Farmácia Leite e aos meus colegas de trabalho, por toda a compreensão e auxílio que me concederam ao longo deste percurso académico.

Por último, um agradecimento especial aos meus pais e ao meu namorado por toda a motivação, compreensão e apoio incondicional.

A todos, muito obrigada!

ÍNDICE GERAL

RESUMO.....	v
ABSTRACT	vi
AGRADECIMENTOS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE TABELAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
I. INTRODUÇÃO.....	12
1.1. Motivação	13
1.2. Objetivos.....	14
1.3. Metodologia.....	14
II. DESENVOLVIMENTO.....	16
2.1. A importância do leite e dos produtos lácteos	16
2.2. Metais pesados no leite e produtos lácteos	17
2.3. Principais fontes de contaminação com metais pesados e sua consequência na saúde humana.....	20
2.4. Teores de metais pesados no leite e produtos lácteos.....	24
2.5. Segurança no consumo de leite e produtos lácteos.....	36
2.6. Metodologias analíticas para a determinação de metais pesados	40
2.6.1. Espectroscopia de absorção atômica (EAA).....	40
2.6.2. Espectroscopia de emissão óptica acoplada a plasma indutivo (ICP-OES)	44
2.6.3. Espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo (ICP-MS)	45
III. CONCLUSÃO.....	47
IV. BIBLIOGRAFIA.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fontes de metais pesados no leite e produtos lácteos (adaptada de Aggarwal et al., 2022).	19
Figura 2. Componentes básicos dos equipamentos usados em a) espectroscopia de absorção atômica, b) espectroscopia de emissão ótica acoplada a plasma indutivo e c) espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo.	41
Figura 3. Principais características das técnicas de espectroscopia atômica para a quantificação de metais pesados. (a) Intervalos típicos dos limites de detecção; (b) Intervalos de trabalho analítico; (c) Tempo de análise vs limite de detecção e (d) Desempenho analítico (sensibilidade) em relação ao custo do equipamento (adaptada de Sahin, 2019; Analytical, 2020).	46

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Consequências dos metais pesados na saúde humana (adaptada de Balali-Mood et al., 2021; Aggarwal et al., 2022).....	21
Tabela 2. Limites máximos de metais pesados no leite e fórmulas lácteas (UE, 2018; UE, 2023b).	25
Tabela 3. Níveis de metais pesados presentes no leite e produtos lácteos reportados em artigos de pesquisa publicados incluídos nesta revisão.	32
Tabela 4. Valores de ingestão diária estimada e quocientes de risco de metais pesados reportados em artigos de pesquisa publicados incluídos nesta revisão.	39
Tabela 5. Comparação de alguns parâmetros de desempenho de métodos de espectroscopia atômica (adaptada de Pedersen-Bjergaard et al., 2019).....	43

LISTA DE ABREVIATURAS

C – concentração

DRF – dose de referência

EAA – espectroscopia de absorção atômica

EFSA – Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos, do inglês, *European Food Safety Authority*

FAO – Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, do inglês, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

ICP-MS – espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo, do inglês, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*

ICP-OES – espectroscopia de emissão ótica acoplada a plasma indutivo, do inglês, *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy*

ID – ingestão diária

IDE – ingestão diária estimada

IDT – ingestão diária tolerável

INE – Instituto Nacional de Estatística

MP – metais pesados

MS – espectrometria de massa, do inglês, *Mass Spectrometry*

PC – peso corporal

QR – quociente de risco

UE – União Europeia

I. INTRODUÇÃO

O leite é um dos alimentos mais consumidos no mundo. De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) mais de 6 mil milhões de pessoas em todo o mundo consomem leite e os seus derivados, tendo o consumo per capita duplicado nos países em desenvolvimento nos últimos sessenta anos (FAO, 2024). A mesma organização prevê que haja um aumento mundial do consumo per capita de 1,0% durante a próxima década (FAO, 2019).

Em Portugal, os dados do Instituto Nacional de Estatística (INE) de 2023 indicam que o consumo de leite e produtos lácteos per capita no ano de 2022 foi de 112,9 kg/ hab (64,5 kg/ hab de leite e 48,4 kg/hab relativos a produtos lácteos), valores ligeiramente abaixo dos registados nos dez anos anteriores (126,5 kg/ hab, dos quais 82,7 kg/ hab eram de leite). A análise dos dados nesta década permite ainda confirmar uma tendência, neste grupo de alimentos, para um maior consumo de produtos lácteos em detrimento do leite (aumento de 35 para 43% de 2012 para 2022, respetivamente) (INE, 2023).

O elevado consumo de leite justifica-se pelo facto de ser uma importante fonte de energia, de proteínas de alta qualidade (3,0-3,9%), de gordura (3,3-5,4%) e minerais (0,7-0,8%). Por exemplo, a caseína do leite, é considerada essencial para a formação dos ossos, dentes e reparação dos tecidos do corpo, enquanto a gordura do leite se combina com as vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) facilitando a sua absorção (Elafify *et al.*, 2023). O contributo para satisfazer os aportes nutricionais necessários de cálcio, fósforo, magnésio, selénio, riboflavina, vitamina B₁₂ e ácido pantoténico pode também ser significativo (Elafify *et al.*, 2023; FAO, 2023). Em algumas espécies animais este alimento pode ainda ser uma fonte de zinco e vitaminas A, C, D e B₆ (FAO, 2023).

Assim, o consumo de leite e produtos lácteos constitui uma fonte importante de nutrientes para uma dieta saudável (Pérez-Carrera *et al.*, 2016; Elafify *et al.*, 2023). Adicionalmente vários estudos apontam para uma relação entre o seu consumo e uma redução dos fatores de risco de doença coronária, menor incidência de diabetes tipo 2 em adultos e efeito protetor em relação a alguns tipos de cancro (designadamente contra o cancro colorrectal e, possivelmente, o cancro da bexiga) (FAO, 2023).

Como referido anteriormente, alguns dos minerais que fazem parte da constituição do leite são metais essenciais. É o caso do ferro (Fe), do cálcio (Ca), do zinco (Zn) e do cobre (Cu) que são imprescindíveis para o desempenho de funções fisiológicas e bioquímicas nos seres vivos (Zhou *et al.*, 2019a).

Em contrapartida, vários estudos referem que o leite e, por consequência os seus derivados, podem conter alguns contaminantes químicos, tais como metais pesados (MP), em resultado do seu influxo a partir do ambiente ou devido a falhas no transporte e/ou processamento, com potenciais riscos para os consumidores (Elafify *et al.*, 2023).

Entre estes MP, destacam-se, pela elevada toxicidade, o chumbo (Pb), o cádmio (Cd), o mercúrio (Hg) e o arsénio (As), elementos sem qualquer biorelevância nas funções fisiológicas e bioquímicas do organismo, que podem ser prejudiciais mesmo em baixas concentrações (Rafiq *et al.*, 2022; Elafify *et al.*, 2023).

Embora possam ter origem natural, a principal razão para a existência de elevados níveis de MP no leite é resultado de atividades antropogénicas que podem comprometer a saúde dos consumidores (Kafouris *et al.*, 2024).

As recomendações das autoridades competentes são, por isso, de que sejam monitorizados os níveis destes e de outros contaminantes no leite e produtos lácteos (UE, 2023b), para garantir a segurança no consumo destes produtos. Esta quantificação pode ainda servir como um indicador indireto dos níveis de poluição no ambiente em que o leite é produzido (Akele *et al.*, 2017).

Diversas metodologias de análise têm sido adotadas para assegurar este controlo com especial destaque para a espectroscopia de absorção atómica (EAA), espectroscopia de emissão ótica acoplada a plasma indutivo (ICP-OES) e a espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo (ICP-MS).

1.1. Motivação

A segurança alimentar é uma preocupação global crescente, especialmente no que diz respeito à presença de contaminantes nos alimentos. Entre estes contaminantes, estão os MP que constituem um perigo devido à sua capacidade de persistência no ambiente e ao seu potencial toxicológico. Os MP, como o Pb, Cd, Hg e As, podem acumular-se ao longo

da cadeia alimentar e apresentar sérios riscos para a saúde, incluindo efeitos carcinogénicos, neurotóxicos e efeitos adversos no desenvolvimento infantil.

A importância nutricional do leite e dos produtos lácteos (tais como, queijos, iogurtes, requeijão, manteiga, entre outros) e o facto de fazerem parte da alimentação diária de uma grande parte da população tornam a contaminação destes produtos com MP uma questão relevante para a saúde pública.

Em face do exposto, a escolha do tema teve como principal motivação a sua atualidade e a relevância na salvaguarda da saúde e bem-estar das populações.

1.2. Objetivos

Com o presente estudo pretende-se:

- analisar a importância do leite e dos produtos lácteos na alimentação humana;
- identificar os MP predominantes no leite e produtos lácteos e determinar as principais fontes de contaminação;
- verificar os possíveis riscos do consumo do leite e produtos lácteos contaminados por MP para a saúde da população;
- sumarizar as principais técnicas de quantificação de MP em amostras de leite e produtos lácteos utilizadas na monitorização e controlo de MP nos mesmos.

1.3. Metodologia

A presente dissertação trata-se de uma revisão narrativa abrangendo diversos artigos científicos relacionados com o tema. A pesquisa bibliográfica realizou-se entre novembro de 2023 e junho de 2024 em bases de dados como a *PubMed*, *Web of Science*, *Science Direct*, *Google Scholar* e *B-on*. Na pesquisa foram utilizadas palavras-chave em inglês, tais como: “milk”, “dairy product”, “heavy metal”, “toxic element”, “food safety”, “health risk”, “detection” e “human health” combinadas com os operadores booleanos “AND” e “OR”. Também se recorreu ao uso do asterisco (*) no fim de algumas das palavras-chave de forma a pesquisar variações da palavra raiz, garantindo que não se perdiam documentos relevantes. Os critérios de inclusão compreenderam artigos

publicados em inglês e português, disponibilizados na totalidade e no período temporal entre 2013 e 2024, salvo algumas exceções de referências que embora sendo anteriores a 2013 se revelaram importantes na elaboração da presente dissertação. Por outro lado, os critérios de exclusão foram artigos em idiomas que não os referidos anteriormente, artigos que abordassem outros contaminantes como aflatoxinas, antibióticos ou pesticidas, estudos de metais pesados presentes no leite materno e artigos não disponibilizados na íntegra. Realizou-se a seleção de artigos relevantes para o tema em estudo, através da leitura dos títulos, resumos e palavras-chave. Assim, dos 235 artigos previamente selecionados, 61 foram analisados na sua íntegra. Adicionalmente, foi recolhida informação em *websites* governamentais, utilizando o motor de busca *Google*.

II. DESENVOLVIMENTO

2.1. A importância do leite e dos produtos lácteos

O leite e os produtos lácteos são alimentos com elevado valor nutricional, consumidos em grandes quantidades nos países desenvolvidos (Barone *et al.*, 2018; Kamal *et al.*, 2022).

Apresentam na sua composição macro e micronutrientes (tais como proteínas, lípidos, hidratos de carbono, vitaminas e minerais) importantes na manutenção de uma dieta equilibrada (Nastasescu *et al.*, 2020; Boudebbouz *et al.*, 2021).

O consumo de leite é fundamental em todas as fases da vida do ser humano e é a única fonte de nutrientes nos primeiros seis meses de vida dos bebés, tornando-se essencial para o seu desenvolvimento e crescimento (Akele *et al.*, 2017; Jaafarzadeh *et al.*, 2023).

Alguns estudos sugerem que ingerir três ou mais produtos lácteos por dia apresenta benefícios para a saúde humana, tais como aumentar os níveis de cálcio, magnésio e vitamina D que são importantes na prevenção de fraturas ósseas e osteoporose (Boudebbouz *et al.*, 2021).

Nos adultos, a ingestão de leite pode auxiliar na prevenção das doenças coronárias, dos acidentes vasculares cerebrais, da diabetes e da hipertensão (Castro-Bedrinana *et al.*, 2023). Além disso, as proteínas e os minerais do leite contribuem para o fortalecimento dos ossos, melhoram a saúde intestinal, previnem a formação de cálculos renais e regulam o peso corporal (Bakircioglu *et al.*, 2018).

No entanto, nos últimos anos, a contaminação do leite foi indicada como um fator de risco para a saúde pública (Ribeiro Sant'Ana *et al.*, 2021). O leite pode conter vários contaminantes, dos quais os MP são um exemplo (Rafiq *et al.*, 2022; UE, 2023b).

Da componente mineral do leite e dos produtos lácteos fazem parte metais essenciais como o Fe, o Ca, o Zn e o Cu que em concentrações reduzidas são fundamentais para o metabolismo humano (Al Sidawi *et al.*, 2021; Rafiq *et al.*, 2022). A maioria destes elementos são cofatores enzimáticos essenciais em várias funções fisiológicas dos seres humanos, onde as deficiências podem levar a distúrbios e condições patológicas (Akele *et al.*, 2017). Como estes elementos não podem ser produzidos pelo corpo humano, têm

de ser obtidos a partir da dieta. Contudo, em concentrações superiores, mesmo estes elementos essenciais podem ser prejudiciais para a saúde, podendo ocorrer uma perturbação homeostática, com bioacumulação no organismo (Antunovic *et al.*, 2023; Zharykbasov *et al.*, 2023).

Além destes metais, o leite pode também conter MP, como o As, o Cd, o Hg e o Pb que não têm qualquer relevância biológica e cuja exposição pode ser perigosa mesmo em concentrações muito baixas (Rafiq *et al.*, 2022; Elafify *et al.*, 2023). Habitualmente a quantidade destes MP no leite é vestigial, mas vários fatores podem elevar substancialmente os seus níveis, tais como a alimentação do gado, os fatores ambientais, os métodos de processamento e os procedimentos de armazenamento (Bakircioglu *et al.*, 2018; Dağcilar e Gezer *et al.*, 2021).

Na literatura são atribuídas à exposição a MP disfunções morfológicas, alterações cognitivas, perturbações do sistema nervoso central, perturbações do fígado, da próstata e dos rins, hipertensão, úlceras, cancro, asma, osteoporose, perturbações hormonais, complicações gastrointestinais, deterioração do sistema imunitário e infertilidade (Balali-Mood *et al.*, 2021; Aggarwal *et al.*, 2022; Rafiq *et al.*, 2022).

Alguns estudos referem mesmo que 30% dos problemas oncológicos a nível mundial se devem à exposição humana aos metais tóxicos, sendo que cerca de 90% dessa exposição tem como origem a ingestão de alimentos contaminados (Rafiq *et al.*, 2022).

2.2. Metais pesados no leite e produtos lácteos

Os MP são definidos como qualquer elemento que possua propriedades específicas como uma elevada densidade (superior a 5-6 g/cm³) e uma massa molar entre os 63,5 e 200 g/mol (Alinezhad *et al.*, 2024).

Embora existam naturalmente no ambiente (por exemplo, como resultado da erosão do solo e da atividade vulcânica), a sua acumulação no solo, na água e no ar deve-se, essencialmente, ao padrão de vida nos países desenvolvidos (Anyanwu *et al.*, 2018). Com efeito, o aumento da população, da urbanização e da expansão industrial e agrícola levou ao aumento da sua concentração nos ecossistemas (devido, nomeadamente, aos efluentes industriais, ao escoamento urbano, aos incêndios florestais, às descargas de esgotos e ao

uso de inseticidas) e à possibilidade da sua inclusão nos produtos alimentares (Jolly *et al.*, 2017; Monteverde *et al.*, 2022; Scutarasu e Trinca *et al.*, 2023).

Ao contrário das substâncias orgânicas, os MP são essencialmente não biodegradáveis, pelo que persistem no meio ambiente, tendem a acumular-se e podem levar à contaminação das cadeias alimentares (Ali *et al.*, 2019; Özbay *et al.*, 2023). A sua elevada toxicidade, mesmo a baixas concentrações, faz com que sejam uma ameaça para a saúde dos seres vivos (Ayangbenro e Babalola *et al.*, 2017; Jaafarzadeh *et al.*, 2023).

Nas últimas décadas, a contaminação do meio ambiente tem registado um aumento exponencial, conduzindo a grandes desequilíbrios ecológicos com impacto na qualidade dos recursos alimentares e na saúde dos consumidores (Kafouris *et al.*, 2024).

As plantas, enquanto componentes essenciais dos ecossistemas naturais e dos sistemas agrícolas, representam o primeiro compartimento da cadeia alimentar terrestre a sofrer contaminação que depois se propaga no sistema chegando, em última análise, ao ser humano (Figura 1). Neste caso, a principal via de contaminação é através das raízes. Plantas cultivadas em solos contaminados captam, e podem acumular, os MP nas partes comestíveis (Djamgoz *et al.*, 2017; Dağcilar e Gezer *et al.*, 2021).

No que diz respeito ao gado, a exposição ao ar poluído, a ingestão de água e/ou o consumo de alimentos contaminados, pode levar à acumulação de MP nos tecidos dos animais. Finalmente estes metais podem também estar presentes no leite, uma vez que, sendo as glândulas mamárias a parte fisiologicamente mais ativa do corpo, é previsível que a entrada e saída de elementos tóxicos se reflita no leite (Jolly *et al.*, 2017; Nastasescu *et al.*, 2020; Dağcilar e Gezer *et al.*, 2021).

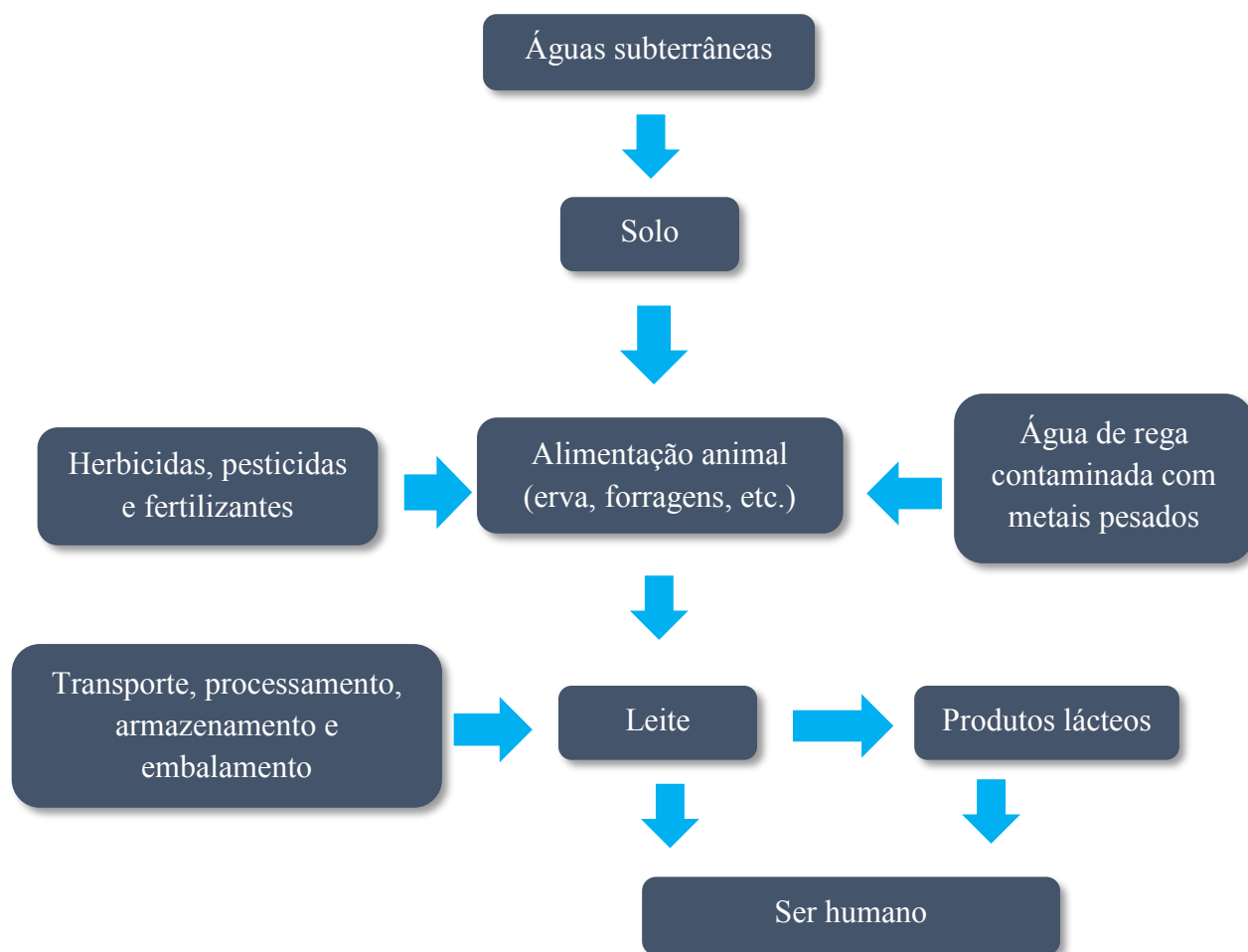


Figura 1. Fontes de metais pesados no leite e produtos lácteos (adaptada de Aggarwal et al., 2022).

A existência de MP no leite e nos seus derivados é, por isso, consequência do consumo de água e/ou alimentos contaminados pelo gado, a que acresce a eventualidade da sua contaminação durante o transporte, processamento, armazenamento e processo de embalagem (Dağcilar e Gezer *et al.*, 2021; Rafiq *et al.*, 2022; Elafify *et al.*, 2023).

Nas áreas de elevada poluição, o risco de contaminação aumenta e assim, a probabilidade de na sua constituição serem encontrados MP é maior (Norouzirad *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2019a).

Além disso, vários autores referem que a acumulação dos MP no leite pode ser potenciada pela afinidade química que os MP podem apresentar com alguns constituintes, como por exemplo a caseína que se liga fortemente ao chumbo (Christophoridis *et al.*, 2019).

A contaminação do leite por MP é potencialmente prejudicial para os organismos dos níveis tróficos superiores da cadeia alimentar, incluindo os seres humanos, devido à sua natureza não degradável e bioacumulativa (Ali *et al.*, 2013). Ou seja, as concentrações de MP aumentam à medida que passam dos níveis tróficos inferiores para os superiores (um fenómeno conhecido como biomagnificação), afetando os órgãos dos seres vivos, como o fígado, o coração, os rins e o cérebro, perturbando o seu funcionamento normal (Ali *et al.*, 2013; Rehman *et al.*, 2018).

2.3. Principais fontes de contaminação com metais pesados e sua consequência na saúde humana

A exposição a elementos metálicos sem qualquer biorelevância nas funções fisiológicas e bioquímicas do organismo é prejudicial. Estes compostos apresentam uma baixa taxa de excreção renal e a contaminação prolongada pode ter efeitos cancerígenos, mutagénicos, teratogénicos e de desregulação endócrina (Dghaim *et al.*, 2015; Dağcilar e Gezer *et al.*, 2021).

O Cd, o Pb, o Hg e o As destacam-se, pela elevada toxicidade que leva a que possam ser nocivos mesmo em baixas concentrações (Sharafi *et al.*, 2019; Ding *et al.*, 2021).

O Cd na forma inorgânica está naturalmente presente no ambiente (como resultado das emissões vulcânicas e da meteorização das rochas), mas a crescente poluição dos solos e dos recursos hídricos deve-se ao seu uso nos fertilizantes fosfatados, às emissões industriais, operações de extração, fundição e refinação de cobre e níquel, fabrico de pigmentos, plásticos e pilhas/baterias (Genchi *et al.*, 2020; Kafouris *et al.*, 2024).

Com uma semi-vida de 15-30 anos, é armazenado principalmente nos rins, nos ossos e no fígado sendo estes órgãos e os sistemas respiratório e reprodutor os principais alvos da intoxicação por este elemento (Tabela 1) (Yan *et al.*, 2022). O Cd apresenta a capacidade de atravessar a barreira placentária e atingir o tecido fetal, exercendo também, efeitos neurotóxicos (Rehman *et al.*, 2018). A maior parte da investigação toxicológica

sobre o Cd centrou-se na sua atividade como carcinogéneo e nefrotóxico (Mazzocco *et al.*, 2020).

A deposição do Ca nos ossos pode ser afetada negativamente pelo Cd, levando ao raquitismo (Ding *et al.*, 2021). Estudos mostram que no final da década de 1940, ocorreu no Japão a doença Itai-Itai, que estava relacionada com o excesso de Cd no organismo. Os doentes desenvolveram sintomas de osteomalácia, osteoporose e fraturas (Li *et al.*, 2018).

O desenvolvimento de doenças cardiovasculares e a modelação das vias metabólicas específicas relacionadas à aterogénese são também apontadas como consequências da exposição ao Cd (Tinkov *et al.*, 2018).

Tabela 1. Consequências dos metais pesados na saúde humana (adaptada de Balali-Mood *et al.*, 2021; Aggarwal *et al.*, 2022).

Metais Pesados	Consequências na saúde humana
Cd	Neurotóxico, carcinogéneo, nefrotóxico, doenças ósseas, danos hepáticos e doenças cardiovasculares.
Pb	Doenças cardiovasculares, neurotóxico, nefrotóxico, alterações hematológicas (anemia), problemas pulmonares, lesões hepáticas.
Hg	Doenças cardiovasculares, lesões do sistema nervoso central, distúrbios gastrointestinais, hepatotoxicidade, disfunção renal e pulmonar.
As	Doenças cardiovasculares, lesão do fígado, lesões cutâneas, lesões do sistema nervoso central, distúrbios gastrointestinais, neurotóxico, cancro do rim, pulmão e bexiga.

O Pb é um contaminante ambiental generalizado e amplamente distribuído. Tem como principal origem a poluição industrial (devido essencialmente à extração mineira, à fundição e ao fabrico de pilhas, tintas e gasolina) que contamina a água, o solo e as forragens (Elafify *et al.*, 2023; Kafouris *et al.*, 2024). Alguns estudos anteriores demonstraram ainda que outros fatores podem estar associados a níveis elevados de Pb no leite, incluindo o transporte rodoviário e fatores climáticos (Aggarwal *et al.*, 2022; Jaafarzadeh *et al.*, 2023).

É sobretudo absorvido pelos sistemas respiratório e digestivo e afeta a maioria dos órgãos do corpo humano, tanto em crianças como em adultos, acumulando-se no fígado, nos rins,

nos ossos e noutros tecidos de forma semelhante ao Ca (Balali-Mood *et al.*, 2021). Apresenta efeitos hematológicos, cardiovasculares, neurotóxicos e nefrotóxicos devido a mecanismos de imunomodulação, oxidativos e inflamatórios (Tabela 1) (Norouzirad *et al.*, 2018; Balali-Mood *et al.*, 2021; Kafouris *et al.*, 2024).

A exposição ao Pb pode causar anemia, hipertensão, disfunção renal, diminuição da função cognitiva nos adultos, aborto espontâneo em mulheres, infertilidade em homens e distúrbios comportamentais em crianças (Özbay *et al.*, 2023).

A toxicidade do Pb nas crianças é mais impactante do que nos adultos, dado que os seus tecidos internos e externos são mais permeáveis do que nos adultos (Wani *et al.*, 2015).

O Hg é um metal que é libertado para o ambiente através de fontes naturais e antropogénicas (Balali-Mood *et al.*, 2021). Encontra-se em três formas químicas diferentes: mercúrio elementar ou metálico (Hg), mercúrio inorgânico (Hg_2^{2+} ou Hg^{2+}) e mercúrio orgânico (que contém metilo, etilo, fenilo ou compostos de grupos semelhantes) (Balali-Mood *et al.*, 2021; Kafouris *et al.*, 2024).

O Hg e os seus compostos orgânicos e inorgânicos podem afetar o funcionamento normal das mitocôndrias e causar *stress* oxidativo. Estes efeitos podem afetar os sistemas nervoso, cardiovascular, digestivo e imunitário, os pulmões, os rins, a pele e os olhos, causando a doença de Minamata, hipertensão, hipotonia, acrodinia e aumento da salivação (Tabela 1) (Ding *et al.*, 2021; Ribeiro Sant'Ana *et al.*, 2021).

As principais fontes de Hg no ambiente são as indústrias do ferro, do aço, do cimento, a extração de ouro, a reciclagem, as baterias, os fungicidas, os anti-sépticos e os desinfetantes (Kafouris *et al.*, 2024). A presença deste metal no leite e nos produtos lácteos é atribuída à ingestão de água e alimentos poluídos pelos animais de pastoreio (Christophoridis *et al.*, 2019).

O As é um elemento amplamente distribuído na natureza e apresenta elevada toxicidade para os organismos vivos (Pérez-Carrera *et al.*, 2016; Balali-Mood *et al.*, 2021). É um metalóide presente em baixas concentrações nas rochas, no solo e na água natural (EFSA, 2014). Os seus compostos são utilizados em pesticidas, herbicidas e inseticidas devido à sua elevada toxicidade (Li *et al.*, 2018). No ambiente, ocorre geralmente como arsénio pentavalente ou arseniato (As^{5+}) e arsénio trivalente ou arsenito (As^{3+}), tanto em formas

inorgânicas como orgânicas, sendo a toxicidade das últimas superiores às das primeiras (Balali-Mood *et al.*, 2021). O trióxido de arsénio (As_2O_3) é o composto mais comum no ar, as formas orgânicas são raras na água, enquanto nos alimentos de origem terrestre as formas predominantes são de As inorgânico e espécies de arsénio metilado simples (metilarsonato, metilarsenito e dimetilarsinato) (Li *et al.*, 2018).

A principal via de absorção do As é o intestino delgado (Balali-Mood *et al.*, 2021). Após entrar na corrente sanguínea é distribuído a vários tecidos e órgãos do corpo, incluindo os pulmões, o coração, os rins, o fígado, os músculos e o tecido nervoso (Balali-Mood *et al.*, 2021). A toxicidade aguda e crónica do As está relacionada com a disfunção de numerosas enzimas vitais, que são inibidas, resultando em múltiplos danos celulares (Tabela 1). As pessoas que sobrevivem a uma intoxicação aguda de As podem sofrer de outras doenças a longo prazo, tais como melanose, depressão da medula óssea, hepatomegalia e encefalopatia (Rehman *et al.*, 2018).

A exposição crónica ao As é particularmente perigosa para bebés e crianças pequenas (Zhou *et al.*, 2019b). Os dados sugerem que a sua ingestão altera os quocientes de inteligência e induz défices de aprendizagem e perturbações do humor como a depressão (Tyler e Allan *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2018).

Estudos realizados em populações expostas ao As por inalação, particularmente em mineiros e trabalhadores de fundições, demonstraram um aumento das taxas de cancro do pulmão. Por outro lado, o aumento da exposição ao As através da água potável indica um aumento das taxas de mortalidade por cancro do rim, pulmão e bexiga (Li *et al.*, 2018; Rehman *et al.*, 2018).

As lesões cutâneas são um dos sintomas importantes da exposição prolongada ao As, que este pode ser absorvido através da pele ou de feridas (Li *et al.*, 2018). Os cancros de pele induzidos pelo As, geralmente indiciam o desenvolvimento de outras neoplasias em órgãos internos, justificada pela desregulação imunitárias associada ao As (Li *et al.*, 2018; Özbay *et al.*, 2023).

2.4. Teores de metais pesados no leite e produtos lácteos

O leite e os produtos lácteos são um grupo alimentar de alto risco em termos de contaminação por MP. O acesso ao leite e aos produtos lácteos é mais barato em comparação com muitas outras fontes alimentares e, por isso, é importante que preservem a sua qualidade (Dağcilar e Gazar *et al.*, 2021).

A legislação europeia não fixou limites máximos para os metais tóxicos nos queijos, mas de forma a garantir a segurança do leite a Comissão Europeia fixou, através do Regulamento (UE) 2023/915, um teor máximo de Pb para leite cru, leite tratado termicamente e leite para o fabrico de produtos à base de leite de 0,020 mg/kg de peso fresco (Tabela 2) (UE, 2023b). Por outro lado, o limite máximo de Pb permitido em fórmulas de leite para bebés e crianças é de 0,010 mg/kg (ONU, 2014).

O mesmo regulamento estipula teores máximos de Cd para fórmulas para lactentes, fórmulas de transição, alimentos para fins medicinais específicos destinados a lactentes e crianças pequenas e fórmulas para crianças pequenas, de 0,005, 0,010 e 0,020 mg/kg consoante a faixa etária e a forma em que se apresentam (líquido ou pó) (Tabela 2) (UE, 2023b).

Relativamente ao As, o Regulamento (UE) 2023/465 identificou o leite e os produtos lácteos como fontes de exposição importantes e reforça o interesse em monitorizar a sua presença nos alimentos (UE, 2023a). O Regulamento (UE) 2023/915 estipula um teor máximo para fórmulas para lactentes, fórmulas de transição e alimentos para fins medicinais específicos destinados a lactentes e crianças pequenas e fórmulas para crianças pequenas de 0,020 mg/kg (forma de pó) ou 0,010 mg/kg (sob a forma líquida) (Tabela 2) (UE, 2023b).

O Regulamento (UE) 2023/915 não especifica um limite para Hg no leite (UE, 2023b). No entanto, de acordo com o Regulamento (UE) 2018/73, o limite máximo de Hg no leite é de 0,010 mg/kg (Tabela 2) (UE, 2018).

Tabela 2. Limites máximos de metais pesados no leite e fórmulas lácteas (UE, 2018; UE, 2023b).

Metais Pesados	Teor máximo (mg/kg)
Cd	0,005 (apresentação sob a forma líquida) 0,010 (apresentação sob a forma líquida ou pó) 0,020 (apresentação sob a forma de pó numa mistura com proteínas do leite de vaca)
Pb	0,020
Hg	0,010
As	0,020 (apresentação sob a forma de pó) 0,010 (apresentação sob a forma líquida)

Um estudo recente conduzido em Manasoura, Egito, com um total de 200 amostras de leite e produtos lácteos reportou concentrações médias para o Hg em leite cru (n=50), leite em pó (n=50), queijo fresco (n=50) e queijo processado (n=50) de 0,0014, 0,0204, 0,0378 e 0,0022 mg/kg, respetivamente, para o As de 0,012, 0,120, 0,0764 e 0,052 mg/kg, para o Pb de 0,1016, 0,3352, 0,2924 e 0,1256 mg/kg e 0,07, 0,1252, 0,1172 e 0,0576 mg/kg, respetivamente, para o Cd (Elafify *et al.*, 2023). As análises de As e Hg foram realizadas por EAA com vaporização química (enquanto o Pb e o Cd foram determinados por EAA com atomização em chama (Tabela 3) (Elafify *et al.*, 2023). De acordo com os valores obtidos no estudo, o Hg foi o único elemento com valores abaixo do valor máximo permitido e que apresentou concentrações mais baixas comparativamente aos outros MP analisados. Por outro lado, o Pb e o Cd excederam os valores máximos regulamentados. O Pb foi o metal predominante nas amostras analisadas e o leite em pó apresentou os níveis mais elevados de todos os MP. Estes factos podem dever-se à forma como estes metais são excretados no leite cru, dependendo da sua persistência e das suas propriedades não biodegradáveis, depois de absorvidos e acumulados nos tecidos dos animais leiteiros. Os MP podem também ser transferidos através dos processos de fabrico como por exemplo, aquando da evaporação do leite e no processamento do queijo, e através do uso de embalagens inadequadas como recipientes de metal. Foi demonstrado que MP, como o Pb, ligam-se às caseínas do leite, e durante a fase de coagulação do processamento do queijo, são transferidos para o coalho, aquando a sua adição (Christophoridis *et al.*, 2019; Elafify *et al.*, 2023). Por este motivo é possível verificar-se níveis elevados dos metais

mencionados anteriormente nas amostras de queijo. A presença de MP no leite cru pode ser devida à água contaminada e/ou a alimentos que absorveram metais do solo, tendo este sido irrigado com águas residuais ou de esgotos. A utilização de fertilizantes pode também influenciar a absorção de MP pelas plantas que posteriormente são consumidas pelos animais (Elafify *et al.*, 2023).

Um outro estudo realizado em duas regiões do sul de Itália, determinou o teor em Cd, Pb e Hg em 79 amostras de queijo tradicional (duro e fresco) por EAA em forno de grafite e EAA com vaporização química no caso do Hg (Barone *et al.*, 2018). No queijo duro foram obtidas concentrações médias de Cd, Hg e Pb de $0,004 \pm 0,001$ mg/kg (intervalo: 0,002-0,01 mg/kg), $0,08 \pm 0,03$ mg/kg (intervalo: 0,04-0,13 mg/kg) e $0,13 \pm 0,10$ mg/kg (intervalo: 0,03-0,37 mg/kg), respetivamente. Relativamente ao queijo fresco, as concentrações médias de Cd, Hg, Pb registadas foram de $0,002 \pm 0,002$ mg/kg (intervalo: ND-0,01 mg/kg), $0,04 \pm 0,02$ mg/kg (intervalo: 0,02-0,07 mg/kg) e $0,07 \pm 0,04$ mg/kg (intervalo: 0,03-0,17 mg/kg), respetivamente (Tabela 3) (Barone *et al.*, 2018). O Cd foi o único MP com valores abaixo do limite máximo permitido e o Pb foi o que registou as concentrações mais elevadas sendo superior ao valor máximo em todas as amostras. Os autores salientam que a sequência dos processos que ocorrem durante a produção de queijo duro, designadamente a perda de teor de água em várias fases de produção, é uma das razões pelas quais este apresenta teores em MP mais elevados em comparação com o queijo fresco. A este facto acrescem outros fatores como as condições ambientais nos locais de transformação, a qualidade dos alimentos, o tipo de matéria-prima (leite de vaca, cabra e/ou ovelha), características dos processos de fabrico, possível contaminação do equipamento durante o processo, embalagem e armazenamento. O elevado teor em Pb nas amostras é atribuído a situações ambientais (ou seja, contaminação local) e ao contacto do leite ou do queijo com utensílios metálicos durante o fabrico. O baixo conteúdo em Cd é justificado pela transferência negligenciável dos alimentos consumidos pelos animais para o leite. Relativamente à presença de Hg, tal pode dever-se ao uso excessivo de compostos de Hg como anti-fúngicos ou ao consumo de alimentos e/ou águas poluídas com este metal (Barone *et al.*, 2018).

No sudeste do Irão foi realizado um estudo em 118 amostras de leite cru, que foram analisadas por EAA em forno de grafite e obtiveram-se concentrações de Cd e Pb de $0,0047 \pm 0,0010$ mg/kg e $0,047 \pm 0,0039$ mg/kg, respetivamente (Tabela 3) (Norouzrad *et*

al., 2018). O teor de Pb obtidos encontra-se acima do teor máximo permitido e tal pode dever-se ao facto das explorações agrícolas de onde foram recolhidas as amostras se encontrarem próximas de campos petrolíferos, de áreas contaminadas devido à guerra do Irão-Iraque e de instalações relacionadas com o petróleo (oleodutos e refinarias) (Norouzirad *et al.*, 2018).

Procedeu-se à análise de outro estudo por EAA em forno de grafite, no Paquistão, onde foram utilizadas 30 amostras de leite cru de búfalas e vacas. Obtiveram-se as concentrações médias de Cd e Pb de $0,020 \pm 0,004$ mg/kg (intervalo: 0,014-0,031 mg/kg) e $0,068 \pm 0,063$ mg/kg (intervalo 0,003-0,303 mg/kg), respetivamente (Tabela 3) (Khan *et al.*, 2014). As concentrações obtidas no estudo encontram-se acima dos valores máximos permitidos, sendo que as elevadas concentrações dos metais podem ser atribuídas à ingestão de pastagem e águas contaminadas. Para além disto, o leite de búfala pode conter uma maior concentração de metais comparativamente ao leite de vaca devido a apresentar um elevado conteúdo de gordura, que ajuda a reter os metais devido à formação de complexos bioactivos (lipofílicos) (Khan *et al.*, 2014).

Castro-Bedrinana e colaboradores quantificaram, por EAA com atomização em chama, a concentração de Cd e Pb presentes no leite cru produzido perto de uma indústria mineiro-metalúrgica, no Peru (Castro-Bedrinana *et al.*, 2021). Foram analisadas 40 amostras de leite, tendo sido obtida uma concentração média de Cd e Pb de $0,01835 \pm 0,0054$ mg/kg e $0,577 \pm 0,018$ mg/kg, respetivamente (Tabela 3) (Castro-Bedrinana *et al.*, 2021), valores muito acima dos limites máximos. As elevadas concentrações de Pb e Cd encontradas neste estudo comprovam a grande preocupação com as explorações agrícolas localizadas na vizinhança de áreas industriais. As emissões gasosas da indústria metalúrgica e as emissões líquidas da indústria mineira levam à contaminação do ambiente (designadamente da água que é utilizada para irrigação) acabando por se refletir na qualidade do leite (Castro-Bedrinana *et al.*, 2021).

Outro estudo também realizado no Peru, analisou 20 amostras de leite cru por EAA com atomização em chama, tendo sido obtidos valores médios de concentração de Cd e Pb de $0,0197 \pm 0,0073$ mg/kg (intervalo: 0,0110–0,0320 mg/kg) e $0,58 \pm 0,018$ mg/kg (intervalo: 0,540–0,600 mg/kg), respetivamente (Tabela 3) (Chirinos-Peinado e Castro-Bedrinana *et al.*, 2020). As amostras foram colhidas numa exploração próxima de um complexo metalúrgico, podendo este facto levar a que as concentrações obtidas no estudo se

encontrem acima dos valores máximos permitidos. As partículas emitidas pelas indústrias metalúrgicas podem adsorver, combinar e transportar MP e outras substâncias tóxicas. Os MP ligados às partículas são transportados pelo ar e depositados na água, nos solos e posteriormente são transferidos para as plantas e outras partes do ecossistema, entrando na cadeia alimentar e afetando a saúde dos animais e dos humanos, dada a sua toxicidade (Chirinos-Peinado e Castro-Bedrinana *et al.*, 2020).

Na China foi conduzido um estudo de maiores dimensões, em que foram recolhidas 997 amostras de leite cru, numa exploração agrícola, sendo estas analisadas por ICP-MS. Os valores de concentração média obtidos para o As, Cd e Pb foram de $0,000301 \pm 9,90 \times 10^{-4}$ mg/kg (intervalo $4,8 \times 10^{-5}$ – $0,01531$ mg/kg), $5 \times 10^{-5} \pm 7 \times 10^{-5}$ mg/kg (intervalo 1×10^{-6} – $6,7 \times 10^{-4}$ mg/kg) e $1,70 \times 10^{-3} \pm 3,62 \times 10^{-3}$ mg/kg (intervalo $1,4 \times 10^{-4}$ – $0,03748$ mg/kg), respetivamente (Tabela 3) (Zhou *et al.*, 2019a). Através dos valores de concentrações médias obtidos, é possível verificar que estes se encontram abaixo dos valores máximos permitidos, sendo que tal pode estar relacionado com o ambiente de produção do leite ser pouco poluído por MP, havendo assim, uma menor transferência dos mesmos para as pastagens e água consumidas pelos animais.

À semelhança do estudo anterior, outro estudo realizado por ICP-MS na China, obteve valores de concentração média abaixo dos valores máximos permitidos. Das 178 amostras de leite cru analisadas as concentrações médias de As, Hg e Pb foram de $1,31 \times 10^{-3} \pm 3,11 \times 10^{-4}$ mg/kg (intervalo $1,0 \times 10^{-3}$ – $2,23 \times 10^{-3}$ mg/kg), $2,24 \times 10^{-3} \pm 1,36 \times 10^{-3}$ mg/kg (intervalo $9,90 \times 10^{-4}$ – $7,35 \times 10^{-3}$ mg/kg) e $8,25 \times 10^{-3} \pm 7,20 \times 10^{-3}$ mg/kg (intervalo $1,95 \times 10^{-3}$ – $0,03$ mg/kg), respetivamente (Tabela 3) (Qu *et al.*, 2018). O Cd foi o único MP que não foi detetável nas amostras analisadas. O leite é um bom indicador do risco de contaminação ambiental na cadeia alimentar e neste caso através dos valores obtidos no estudo verifica-se que apresenta um baixo risco de contaminação. Assim, a determinação das concentrações de MP pode servir como um indicador geral da qualidade do leite e dos produtos lácteos para garantir a segurança dos consumidores (Qu *et al.*, 2018).

Esposito e colaboradores ao analisarem As, Cd, Hg e Pb em 68 amostras de leite cru, na Itália, por ICP-MS obtiveram concentrações médias de $0,00302 \pm 0,0017$ mg/kg (intervalo: $0,0042$ – $0,00943$ mg/kg), $0,000535 \pm 0,00053$ mg/kg (intervalo: $0,00044$ – $0,00303$ mg/kg), $0,000781 \pm 0,00015$ mg/kg (intervalo: $0,0015$ – $0,00165$ mg/kg) e $0,00522 \pm 0,0067$ mg/kg (intervalo: $0,00126$ – $0,0526$ mg/kg), respetivamente (Tabela 3)

(Esposito *et al.*, 2017). Apesar de as amostras terem sido recolhidas numa zona poluída por resíduos industriais e domésticos, os teores médios obtidos no estudo encontram-se abaixo dos valores máximos permitidos. Tal como referido, a determinação de MP no leite cru consiste num meio indireto de controlar o impacto da atividade antropogénica no solo, na água e no ar, sendo, por isso, possível verificar que, neste caso, a contaminação da cadeia alimentar é reduzida. Apesar de uma amostra ter sido considerada não conforme devido ao conteúdo de Pb, a concentração média deste MP revelou-se muito inferior ao limite máximo regulamentado, levando assim, a um risco muito baixo de exposição humana ao Pb através do consumo da amostra utilizada neste estudo (Esposito *et al.*, 2017).

Um outro trabalho analisou, por ICP-OES, 100 amostras de leite cru provenientes de uma região no Irão com uma intensa atividade agrícola (Jaafarzadeh *et al.*, 2023), com recurso a fertilizantes contendo cádmio, e eliminação de águas municipais e águas residuais industriais não tratadas que resultaram na contaminação dos solos e dos recursos hídricos com MP na região. Além disso, o volume de tráfego e de transporte rodoviário na região, devido ao estabelecimento de várias indústrias, como a petroquímica e a produção de petróleo, levou à libertação de vários poluentes. A concentração média de Pb e Cd foi de $0,53 \pm 0,09$ mg/kg e $0,0030 \pm 0,0004$ mg/kg, respetivamente (Jaafarzadeh *et al.*, 2023) (Tabela 3). O teor médio de Cd obtido no estudo encontra-se abaixo dos valores máximos permitidos, sendo que a transferência deste metal através da alimentação do gado para o leite é não será por isso significativa. Por outro lado, os valores de concentração média do Pb encontram-se acima dos valores máximos permitidos o que se justifica pelo facto de as amostras de leite ao terem sido recolhidas numa zona com elevada produção industrial, que leva a que o Pb se acumule nas pastagens consumidas pelos animais, contaminando o leite que posteriormente é consumido pelos seres humanos. Os autores do presente estudo indicam ser essencial desenvolver estratégias próprias, como o controlo da descarga de efluentes industriais e resíduos, para controlar a poluição com MP (Jaafarzadeh *et al.*, 2023).

Num outro estudo conduzido no México, foram determinadas, também por ICP-OES, as concentrações de As e Pb em 60 amostras de leite cru, 84 de requeijão, 84 de soro de leite e 24 de amostras de 2 tipos queijo (12 amostras de queijo oaxaca e 12 de queijo ranchero) (Castro-Gonzalez *et al.*, 2018). As concentrações no leite cru, requeijão, soro de leite e

nos 2 tipos de queijo foram de $0,12\pm 0,08$ mg/kg, $0,07\pm 0,05$ mg/kg, $0,52\pm 0,4$ mg/kg, $0,17\pm 0,1$ mg/kg (queijo oaxaca) e $0,16\pm 0,07$ mg/kg (queijo ranchero), respetivamente para o As e $0,03\pm 0,01$ mg/kg, $0,02\pm 0,00$ mg/kg, $0,07\pm 0,02$ mg/kg, $0,05 \pm 0,03$ mg/kg (queijo oaxaca), $0,11\pm 0,04$ mg/kg (queijo ranchero), respetivamente para o Pb (Tabela 3) (Castro-Gonzalez *et al.*, 2018). No caso do Pb, a concentração mais elevada foi obtida para uma das amostras de queijo (queijo ranchero). Por outro lado, o soro de leite foi o tipo de matriz que apresentou o teor mais elevado de As, seguido pelos 2 tipos de queijos com teores muito semelhantes neste metal. Os valores de concentrações obtidos para os dois MP em estudo encontram-se acima dos valores máximos regulamentados. A contaminação dos queijos por MP foi justificada pela utilização de leite produzido em áreas contaminadas pela irrigação com águas residuais da indústria. A variação dos níveis de MP nas amostras foi depois relacionada com o processo de fabricação. Quando a enzima (coalho) é adicionada ao leite, inicia-se a hidrólise da proteína do leite (κ -caseína) que leva à formação de dois compostos: a coalhada (composto por gorduras saturadas, lactose e caseína) e o soro de leite (que contém a maior parte da lactose, proteínas, vitaminas e minerais), que é o precursor do queijo rancheiro (Castro-Gonzalez *et al.*, 2018). O aumento do teor de proteínas aumenta o teor de Pb devido à afinidade deste metal pelas proteínas do soro do leite. Outro aspeto importante é o teor de humidade. A prensagem do queijo para remoção do excesso de humidade e moldagem leva a um aumento do nível de MP (incluindo do nível de As). Quanto ao As, a sua elevada afinidade para os lípidos, explica porque a concentração encontrada no soro foi a mais elevada entre as amostras (Castro-Gonzalez *et al.*, 2018).

Vários estudos (Barone *et al.*, 2018; Castro-Gonzalez *et al.*, 2018; Elafify *et al.*, 2023) salientam que os valores de concentrações de MP obtidos na análise de queijo, comparativamente a outras amostras como o leite cru, são superiores e tal pode ser justificado com o facto do teor em água ser menor e a quantidade de proteínas ser maior. Assim, a elevada afinidade dos metais para a caseína do leite contribui para que haja uma elevada concentração dos mesmos nos queijos.

Concentrações de MP acima dos valores máximos foram também relatadas em amostras de leite cru recolhidas em áreas rurais, como no Paquistão, com pouca atividade industrial ou metalúrgica (Khan *et al.*, 2014). Estas concentrações elevadas podem dever-se a outros

fatores, tais como a deslocação sazonal dos rebanhos pelas estradas, o uso de águas residuais e de pesticidas, contaminando assim, a alimentação dos animais de pastoreio.

Estudos realizados em zonas poluídas (Norouzirad *et al.*, 2018; Chirinos-Peinado e Castro-Bedrinana *et al.*, 2020; Castro-Bedrinana *et al.*, 2021; Jaafarzadeh *et al.*, 2023) apresentam elevados níveis de concentrações de MP, sendo estes superiores aos regulamentados. Nestes estudos, as amostras de leite cru recolhidas foram obtidas em zonas perto de indústrias petroquímicas e minero-metalúrgica. Assim, as elevadas concentrações de MP podem ser justificadas com emissões das indústrias para a atmosfera que posteriormente levam à acumulação dos metais nas águas e pastagem consumidas pelos animais. É possível também verificar que as concentrações de Pb no leite produzido nestas regiões contaminadas pela indústria são essencialmente mais elevadas do que as concentrações deste metal em zonas não poluídas.

A análise de leite cru em explorações agrícolas localizadas na China (Qu *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2019a) e na Itália (Esposito *et al.*, 2017) obtiveram valores de concentração de MP abaixo dos valores máximos permitidos. Assim, verifica-se que em explorações situadas em zonas rurais, pequenas províncias e em zonas pouco poluídas ocorre um baixo risco de contaminação do leite e dos seus derivados.

Através das concentrações de MP obtidas nos estudos analisados, também, é possível verificar que as concentrações são mais elevadas nos países em desenvolvimento comparativamente aos países desenvolvidos. Tal pode ser devido à regulamentação utilizada nos países em desenvolvimento ser menos rigorosa.

As diferenças de concentrações de MP obtidas nos diferentes estudos analisados podem ainda ser devidas a vários fatores, entre os quais as técnicas analíticas utilizadas, a dimensão das amostras, e a contaminação durante o transporte, processamento, armazenamento e processo de embalagem.

Tabela 3. Níveis de metais pesados presentes no leite e produtos lácteos reportados em artigos de pesquisa publicados incluídos nesta revisão.

Referência Bibliográfica	Amostras	Metodologia / Parâmetros de desempenho analítico	Níveis de Metais Pesados			
			As	Cd	Hg	Pb
(Castro-Bedrinana <i>et al.</i> , 2021)	40 (leite cru)	EAA chama <u>Limite de detecção:</u> 0,045 mg/kg para o Pb e 0,002 mg/kg para o Cd		0,01835±0,0054 mg/kg		0,577±0,018 mg/kg
(Chirinos-Peinado <i>et al.</i> , 2020)	20 (leite cru)	EAA chama <u>Limites de detecção:</u> 0,045 mg/kg para o Pb e 0,002 mg/kg para o Cd		0,0197±0,0073 mg/kg (intervalo: 0,0110–0,0320 mg/kg)		0,58±0,018 mg/kg (intervalo: 0,540–0,600 mg/kg)
(Elafify <i>et al.</i> , 2023)	200 (50 de leite cru, 50 de leite em pó, 50 de queijo fresco e 50 de queijo processado)	EAA vaporização química (As e Hg) e EAA chama (Pb e Cd) <u>Limites de detecção:</u> 1,6x10 ⁻⁵ mg/kg, 2,01x10 ⁻⁴ mg/kg, 1,42x10 ⁻⁴ mg/kg, 2,42x10 ⁻⁵ mg/kg para o Hg, As, Pb e Cd, respectivamente <u>Limites de quantificação:</u> 5,1x10 ⁻⁵ mg/kg, 6,85x10 ⁻⁴ mg/kg, 4,71x10 ⁻⁴ mg/kg e 8,23x10 ⁻⁵ mg/kg para o Hg, As, Pb e Cd, respectivamente <u>Recuperação:</u> 97,5%, 102,4%, 98,1%, 97,1% para o Hg, As, Pb e Cd, respectivamente	0,012 mg/kg (leite cru) 0,120 mg/kg (leite em pó) 0,0764 mg/kg (queijo fresco) 0,052 mg/kg (queijo processado)	0,07 mg/kg (leite cru) 0,1252 mg/kg (leite em pó) 0,1172 mg/kg (queijo fresco) 0,0576 mg/kg (queijo processado)	0,0014 mg/kg (leite cru) 0,0204 mg/kg (leite em pó) 0,0378 mg/kg (queijo fresco) 0,0022 mg/kg (queijo processado)	0,1016 mg/kg (leite cru) 0,3352 mg/kg (leite em pó) 0,2924 mg/kg (queijo fresco) 0,1256 mg/kg (queijo processado)

Tabela 3. Níveis de metais pesados presentes no leite e produtos lácteos reportados em artigos de pesquisa publicados incluídos nesta revisão (continuação).

Referência Bibliográfica	Amostras	Metodologia / Parâmetros de desempenho analítico	Níveis de Metais Pesados			
			As	Cd	Hg	Pb
(Barone <i>et al.</i> , 2018)	79 (queijos duros e frescos)	EAA eletrotérmica (Cd e Pb) e EAA vaporização química (Hg) <u>Limites de detecção:</u> 0,01000 mg/kg, 0,00010 mg/kg e 0,00500 mg/kg para o Pb, Cd e Hg, respetivamente <u>Limite de quantificação:</u> 0,03000 mg/kg, 0,00038 mg/kg e 0,01300 mg/kg para o Pb, Cd e Hg, respetivamente <u>Recuperação:</u> 96%, 103% e 104% para o Pb, Cd e Hg, respetivamente		0,004±0,001 mg/kg (intervalo: 0,002–0,01 mg/kg) (queijos duros) 0,002±0,002 mg/kg (intervalo: n.d.–0,01 mg/kg) (queijos frescos)	0,08±0,03 mg/kg (intervalo: 0,04–0,13 mg/kg) (queijos duros) 0,04±0,02 mg/kg (intervalo: 0,02–0,07 mg/kg) (queijos frescos)	0,13±0,10 mg/kg (intervalo: 0,03–0,37 mg/kg) (queijos duros) 0,07±0,04 mg/kg (intervalo: 0,03–0,17 mg/kg) (queijos frescos)
(Norouzirad <i>et al.</i> , 2018)	118 (leite cru)	EAA eletrotérmica <u>Limites de detecção:</u> 0,0030 mg/kg para o Pb e 0,0004 mg/kg para o Cd <u>Limites de quantificação:</u> 0,0090 mg/kg para o Pb e 0,0012 mg/kg para o Cd <u>Recuperação:</u> 95-110% para o Pb e 80-97% para o Cd		0,0047 ± 0,0010 mg/kg		0,047 ± 0,0039 mg/kg

Tabela 3. Níveis de metais pesados presentes no leite e produtos lácteos reportados em artigos de pesquisa publicados incluídos nesta revisão (continuação).

Referência Bibliográfica	Amostras	Metodologia / Parâmetros de desempenho analítico	Níveis de Metais Pesados			
			As	Cd	Hg	Pb
(Khan <i>et al.</i> , 2014)	30 (leite cru)	EAA eletrotérmica <u>Limites de detecção:</u> 0,00078 mg/kg, 0,0146 mg/kg para Cd e Pb, respectivamente		0,020±0,004 mg/kg (intervalo: 0,014–0,031 mg/kg)		0,068±0,063 mg/kg (intervalo: 0,003–0,303 mg/kg)
(Jaafarzadeh <i>et al.</i> , 2023)	100 (leite cru)	ICP-OES <u>Limites de detecção:</u> 1,0x10 ⁻⁶ mg/kg e 4,0x10 ⁻⁶ mg/kg para o Cd e Pb, respectivamente <u>Limites de quantificação:</u> 2,8x10 ⁻⁴ mg/kg e 9,0x10 ⁻⁴ mg/kg para o Cd e Pb, respectivamente <u>Recuperação:</u> entre 95,0-104,0%		0,0030±0,0004 mg/kg		0,53±0,09 mg/kg
(Castro-Gonzalez <i>et al.</i> , 2018)	252 (60 de leite cru, 84 de requeijão, 84 de soro de leite, 12 de queijo oaxaca e 12 de queijo rancheiro)	ICP-OES <u>Limite de detecção:</u> 0,0001 mg/kg <u>Limite de quantificação:</u> 0,0003 mg/kg <u>Recuperação:</u> 104%	0,12±0,08 mg/kg (leite cru) 0,07±0,05 mg/kg (requeijão) 0,52±0,4 mg/kg (soro de leite) 0,17±0,1 mg/kg (queijo oaxaca) 0,16±0,07 mg/kg (queijo rancheiro)			0,03±0,01 mg/kg (leite cru) 0,02±0,00 mg/kg (requeijão) 0,07±0,02 mg/kg (soro de leite) 0,05±0,03 mg/kg (queijo oaxaca) 0,11±0,04 mg/kg (queijo rancheiro)

Tabela 3. Níveis de metais pesados presentes no leite e produtos lácteos reportados em artigos de pesquisa publicados incluídos nesta revisão (continuação).

Referência Bibliográfica	Amostras	Metodologia / Parâmetros de desempenho analítico	Níveis de Metais Pesados			
			As	Cd	Hg	Pb
(Zhou <i>et al.</i> , 2019a)	997 (leite cru)	ICP-MS <u>Limites de detecção:</u> 0,00027 mg/kg, 8,74x10 ⁻⁵ mg/kg e 2,81x10 ⁻⁵ mg/kg para Pb, As e Cd, respectivamente <u>Recuperação:</u> 97,1%, 94,4% e 95,5% para Pb, As e Cd, respectivamente	0,000301±9,90x10 ⁻⁴ mg/kg (intervalo 4,8x10 ⁻⁵ –0,01531 mg/kg)	5x10 ⁻⁵ ±7x10 ⁻⁵ mg/kg (intervalo 1x10 ⁻⁶ –6,7x10 ⁻⁴ mg/kg)		1,70x10 ⁻³ ±3,62x10 ⁻³ mg/kg (intervalo 1,4x10 ⁻⁴ –0,03748 mg/kg)
(Qu <i>et al.</i> , 2018)	178 (leite cru)	ICP-MS <u>Limites de detecção:</u> 4,85x10 ⁻⁵ mg/kg, 9,71x10 ⁻⁶ mg/kg, 9,71x10 ⁻⁶ mg/kg e 9,71x10 ⁻⁶ mg/kg para As, Cd, Hg e Pb, respectivamente <u>Recuperação:</u> 93,8-100,4%, 89,5-102,3%, 85,0-104,3% e 100,6-107,6% para As, Cd, Hg e Pb, respectivamente	1,31x10 ⁻³ ± 3,11x10 ⁻⁴ mg/kg (intervalo 1,0x10 ⁻³ –2,23x10 ⁻³ mg/kg)	não detetável	2,24x10 ⁻³ ± 1,36x10 ⁻³ mg/kg (intervalo 9,90x10 ⁻⁴ –7,35x10 ⁻³ mg/kg)	8,25x10 ⁻³ ±7,20x10 ⁻³ mg/kg (intervalo 1,95x10 ⁻³ –0,03 mg/kg)
(Esposito <i>et al.</i> , 2017)	68 (leite cru)	ICP-MS <u>Limites de detecção:</u> 0,0013 mg/kg, 0,00013 mg/kg, 0,00045 mg/kg e 0,00075 mg/kg para o As, Cd, Hg e Pb, respectivamente <u>Limites de quantificação:</u> 0,0042 mg/kg, 0,00044 mg/kg, 0,0015 mg/kg e 0,0025 mg/kg para o As, Cd, Hg e Pb, respectivamente	0,00302±0,0017 mg/kg (intervalo: 0,0042–0,00943 mg/kg)	0,000535±0,00053 mg/kg (intervalo: 0,00044–0,00303 mg/kg)	0,000781±0,00015 mg/kg (intervalo: 0,0015–0,00165 mg/kg)	0,00522±0,0067 mg/kg (intervalo: 0,00126–0,0526 mg/kg)

2.5. Segurança no consumo de leite e produtos lácteos

Na UE, a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) estabelece limites máximos de ingestão de MP com base em avaliações de risco conduzidas por organizações de saúde pública. A ingestão semanal tolerável estabelecida para o Cd é de $2,5 \times 10^{-3}$ mg/kg de peso corporal (equivalente a $3,6 \times 10^{-4}$ mg/kg de peso corporal por dia) e para o Hg inorgânico é de $4,0 \times 10^{-3}$ mg/kg de peso corporal (equivalente a $5,7 \times 10^{-4}$ mg/kg de peso corporal por dia) (EFSA, 2012a; EFSA, 2012c). Relativamente ao As inorgânico, o valor de ingestão diária tolerável (IDT) é de $6,0 \times 10^{-5}$ mg/kg de peso corporal (Chain *et al.*, 2024). Quanto ao Pb, a EFSA não estabelece um nível de segurança para a ingestão devido ao seu risco mesmo em baixas doses, especialmente em crianças e mulheres grávidas (EFSA, 2012b).

O risco de toxicidade não carcinogénica de cada um dos MP para o ser humano resultante do consumo de leite e produtos lácteos contaminados, pode ser avaliado através do cálculo do chamado quociente de risco (QR):

$$QR = \frac{IDE}{DRF}$$

sendo IDE a ingestão diária estimada do metal no alimento (mg/ kg.dia) e DRF a dose de referência (mg/kg.dia) (Khan *et al.*, 2014; Elafify *et al.*, 2023; Jaafarzadeh *et al.*, 2023). A IDE pode ser determinada através da equação:

$$IDE = \frac{C \times ID}{PC}$$

em que C é a concentração média do MP presente no leite e nos produtos lácteos (mg/kg), ID a ingestão diária de leite e produtos lácteos por cada quilograma de peso corporal de um adulto e PC o peso corporal médio de um adulto (70 kg) (Elafify *et al.*, 2023).

Através dos valores de QR é possível avaliar os potenciais riscos para a saúde humana associados à exposição a longo prazo a poluentes químicos (Boudebbouz *et al.*, 2021). Um valor de QR inferior a 1 sugere um risco não carcinogénico negligenciável, enquanto um valor de QR superior a 1 sugere um risco de toxicidade não carcinogénica relevante (Yan *et al.*, 2022).

O estudo realizado por Elafify e os seus colaboradores avaliou a IDE para o As em amostras de leite cru, leite em pó, queijo fresco e queijo processado de $1,01 \times 10^{-5}$, $1,01 \times 10^{-4}$, $2,07 \times 10^{-5}$ e $1,41 \times 10^{-5}$ mg/kg.dia, respetivamente, para o Cd de $5,89 \times 10^{-5}$, $1,05 \times 10^{-4}$, $3,17 \times 10^{-5}$ e $1,56 \times 10^{-5}$ mg/kg.dia, para o Hg de $1,18 \times 10^{-6}$, $1,72 \times 10^{-5}$, $1,02 \times 10^{-5}$ e $5,95 \times 10^{-7}$ mg/kg.dia e $8,56 \times 10^{-5}$, $2,82 \times 10^{-4}$, $7,92 \times 10^{-5}$ e $3,40 \times 10^{-5}$ mg/kg.dia, respetivamente para o Pb (Tabela 4) (Elafify *et al.*, 2023). Os valores de IDE obtidos foram comparados aos valores de IDT estabelecidos pela EFSA, permitindo, assim, avaliar o risco que a ingestão de leite e produtos lácteos contaminados com MP pode acarretar para a saúde. O Hg e o Cd nas amostras analisadas apresentam valores de IDE abaixo dos valores de IDT regulamentados. Tal indica que não existe risco potencial para a saúde humana decorrente do consumo de leite e dos seus derivados. No que diz respeito ao As, este metal apresenta para a amostra de leite em pó um valor de IDE acima do valor regulamentado, contrariamente às outras amostras, em que os valores de IDE se encontram abaixo dos valores de IDT estabelecidos pela EFSA. Deste modo, o consumo de leite em pó pelos seres humanos pode representar um risco para a sua saúde, já que pode trazer consequências como a alteração do quociente de inteligência e o défice de aprendizagem (Tyler e Allan *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2018). Neste estudo foi também obtido o QR para o Cd em amostras de leite cru, leite em pó, queijo fresco e queijo processado de $5,89 \times 10^{-2}$, $1,05 \times 10^{-1}$, $3,17 \times 10^{-2}$ e $1,56 \times 10^{-2}$, respetivamente e para o Hg de $1,18 \times 10^{-2}$, $1,72 \times 10^{-1}$, $1,02 \times 10^{-1}$ e $5,95 \times 10^{-3}$ (Tabela 4) (Elafify *et al.*, 2023).

No Irão, foi realizado um estudo que analisou amostras de leite cru, tendo sido obtido o QR de 0,044 para o Cd e de 0,314 para o Pb (Tabela 4) (Jaafarzadeh *et al.*, 2023).

O estudo realizado no Paquistão analisou o QR nas amostras em estudo, sendo que os valores obtidos foram de $2,50 \times 10^{-1}$ (em adultos) e $9,30 \times 10^{-1}$ (em crianças) para o Cd e $8,90 \times 10^{-3}$ (em adultos) e $3,30 \times 10^{-2}$ (em crianças) para o Pb (Tabela 4) (Khan *et al.*, 2014).

Com base na análise dos três estudos mencionados anteriormente, é possível constatar que, em todos eles, foram obtidos valores de QR inferiores a 1. Apura-se, então, que os consumidores das amostras em cada estudo não serão expostos a potenciais riscos para a saúde, aquando do consumo dos mesmos.

Os diferentes valores de QR obtidos variam consoante a concentração de MP no leite, o tipo de MP em análise, a quantidade de ingestão diária e o período e frequência de exposição (Jaafarzadeh *et al.*, 2023).

Tabela 4. Valores de ingestão diária estimada e quocientes de risco de metais pesados reportados em artigos de pesquisa publicados incluídos nesta revisão.

Referência bibliográfica	Metais Pesados	IDE (mg/kg.dia)	QR
(Elafify <i>et al.</i> , 2023)	As	1,01x10 ⁻⁵ (leite cru) 1,01x10 ⁻⁴ (leite em pó) 2,07x10 ⁻⁵ (queijo fesco) 1,41x10 ⁻⁵ (queijo processado)	
	Cd	5,89x10 ⁻⁵ (leite cru) 1,05x10 ⁻⁴ (leite em pó) 3,17x10 ⁻⁵ (queijo fesco) 1,56x10 ⁻⁵ (queijo processado)	5,89x10 ⁻² (leite cru) 1,05x10 ⁻¹ (leite em pó) 3,17x10 ⁻² (queijo fesco) 1,56x10 ⁻² (queijo processado)
	Hg	1,18x10 ⁻⁶ (leite cru) 1,72 x10 ⁻⁵ (leite em pó) 1,02x10 ⁻⁵ (queijo fesco) 5,95x10 ⁻⁷ (queijo processado)	1,18x10 ⁻² (leite cru) 1,72x10 ⁻¹ (leite em pó) 1,02x10 ⁻¹ (queijo fesco) 5,95x10 ⁻³ (queijo processado)
	Pb	8,56x10 ⁻⁵ (leite cru) 2,82x10 ⁻⁴ (leite em pó) 7,92x10 ⁻⁵ (queijo fresco) 3,40x10 ⁻⁵ (queijo processado)	
(Jaafarzadeh <i>et al.</i> , 2023)	Cd		0,044 (leite cu)
	Pb		0,314 (leite cru)
(Khan <i>et al.</i> , 2014)	Cd		2,50x10 ⁻¹ (leite cru em adultos) 9,30x10 ⁻¹ (leite cru em crianças)
	Pb		8,90x10 ⁻³ (leite cru em adultos) 3,30x10 ⁻² (leite cru em crianças)

2.6. Metodologias analíticas para a determinação de metais pesados

O elevado consumo de leite e de produtos lácteos a nível mundial aliado ao carácter tóxico e persistente dos MP, leva a que a sua quantificação nestes alimentos seja relevante na abordagem de fatores determinantes dos problemas de saúde pública (Akele *et al.*, 2017).

Esta determinação é uma tarefa difícil devido à complexidade das matrizes e às reduzidas concentrações dos MP (Akele *et al.*, 2017; Bakircioglu *et al.*, 2018). Os procedimentos envolvem o pré-tratamento das amostras, geralmente por digestão ácida, seguido da análise elementar dos MP por diferentes sistemas de deteção entre os quais se destacam a EAA, ICP-OES e a ICP-MS que a seguir se descrevem (Akele *et al.*, 2017).

A EAA é uma opção mais económica e simples para análises específicas de poucos elementos, enquanto a ICP-OES e a ICP-MS são preferidas para análises multielementares e quando são necessárias sensibilidades muito elevadas (Zwierzchowski, 2019; Pekou *et al.*, 2022; Silalahi *et al.*, 2023).

Cada método tem as suas características e a escolha de um processo em detrimento do outro, requer análise cuidadosa dos prós e contras que se encontram em cada situação. Por este facto, encontram-se descritos na literatura estudos conduzidos com metodologias variadas (Tabela 3), inclusivé com recurso a outros métodos de deteção (designadamente, técnicas eletroanalíticas) que apesar de apresentarem menor seletividade são menos dispendiosos, fáceis de realizar (sem necessidade de pessoal treinado para operar com os instrumentos), fiáveis e que apresentam a possibilidade de utilização no terreno (Suturovic *et al.*, 2014; Ding *et al.*, 2021).

2.6.1. Espectroscopia de absorção atómica (EAA)

A EAA é uma técnica analítica bem-sucedida e estabelecida e largamente utilizada nos laboratórios de pesquisa, aplicações e controlo de qualidade para a determinação quantitativa de elementos em baixas concentrações, presentes em várias matrizes, incluindo alimentos (Paixao *et al.*, 2019). Uma das características mais distintivas da EAA relativamente aos procedimentos de emissão é a sua natureza monoelementar, condicionada pela existência de uma fonte de radiação específica para cada átomo (Figura 2) (Paixao *et al.*, 2019).

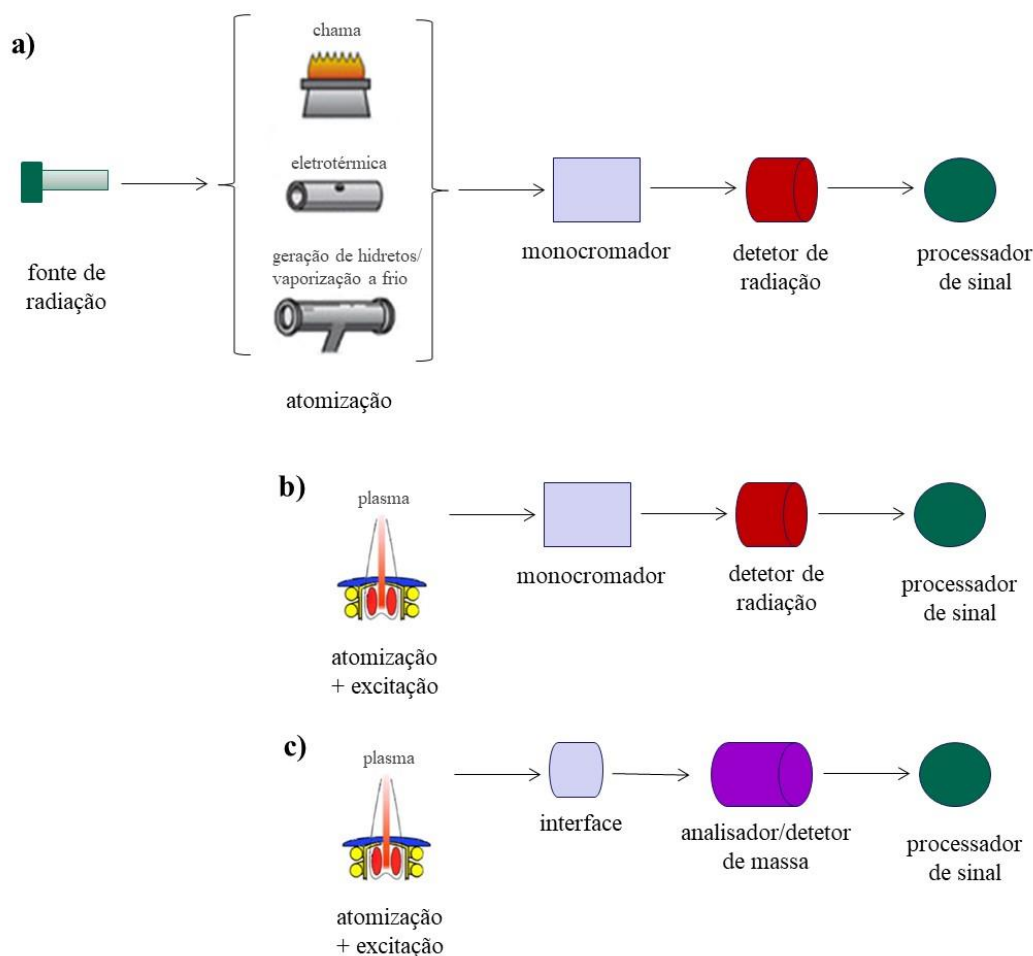


Figura 2. Componentes básicos dos equipamentos usados em **a)** espectroscopia de absorção atômica, **b)** espectroscopia de emissão óptica acoplada a plasma indutivo e **c)** espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo.

Este método baseia-se na absorção de radiação, a um comprimento de onda específico, por átomos gasosos no estado de energia fundamental, transitando para estados de energia superiores (isto é, estados excitados) (Pedersen-Bjergaard *et al.*, 2019). Cada elemento químico possui riscas de absorção características em comprimentos de onda específicos pelo que, tradicionalmente, para realizar a medição é necessário dispor de uma lâmpada específica que emite radiação em comprimentos de onda que correspondem precisamente às linhas de absorção do elemento a ser analisado (Analytical, 2020). Portanto, cada análise requer uma fonte de luz adaptada ao elemento específico, limitando a técnica à análise de um elemento de cada vez (Aggarwal *et al.*, 2022). De salientar que, apesar de o uso não estar ainda vulgarizado, existe atualmente a possibilidade de utilizar uma fonte contínua de alta resolução que emite radiação numa faixa ampla e contínua de comprimentos de onda, permitindo realizar análises sequenciais de vários elementos sem

a necessidade de trocar a fonte de luz, melhorando significativamente a eficiência da técnica (Paixao *et al.*, 2019).

Independentemente do elemento em análise, após a pré-preparação da amostra, é necessária a sua atomização, um processo complexo no qual a amostra é volatilizada e decomposta de forma a produzir uma fase gasosa de átomos (Figura 2). A escolha do sistema de atomização apropriado depende essencialmente do metal que se pretende determinar havendo quatro opções: atomização em chama, atomização eletrotérmica, atomização por geração de hidretos e atomização por vaporização a frio (Aggarwal *et al.*, 2022). As duas últimas opções são muitas vezes denominadas em conjunto como vaporização química.

As duas primeiras opções permitem a atomização de dezenas de elementos entre os quais se encontram o Cd e o Pb. Na chama, a amostra é primeiro nebulizada e em seguida introduzida numa chama, onde os compostos são dissociados em átomos livres podendo depois absorver radiação aos comprimentos de onda específicos (Aggarwal *et al.*, 2022). A simplicidade operacional deste sistema é elevada e o custo reduzido. Porém, o facto de haver uma significativa perda de amostra no passo de nebulização (cerca de 95%) e o reduzido tempo de permanência dos átomos na chama condicionam drasticamente a sensibilidade do método e tornam os limites de deteção demasiado elevados, inviabilizando o seu uso em aplicações quantitativas em que os elementos se encontram em concentrações vestigiais (Tabela 5) (Pedersen-Bjergaard *et al.*, 2019).

Tabela 5. Comparação de alguns parâmetros de desempenho de métodos de espectroscopia atômica (adaptada de Pedersen-Bjergaard et al., 2019).

	Absorção atômica		Emissão atômica	
	Chama	Eletrotérmica	ICP-OES	ICP-MS
Limites de detecção	10-1000 µg/L	0,01-1 µg/L	0,1-10 µg/L	< ng/L
Intervalo de linearidade	10 ²	10 ²	10 ⁵	10 ⁸
Precisão	0,1-1%	0,5-5%	0,1-2%	0,5-2%
Ritmo de amostragem	10-15 seg/elemento	3-4 min/elemento	> 50 elementos/min	> 50 elementos/min
Volume de amostra	10 mL	alguns µL	alguns mL	alguns mL

A atomização eletrotérmica oferece uma maior sensibilidade relativamente à chama e pode ser usada para a quantificação de Cd e Pb e também para a análise de As. Neste caso, a amostra é atomizada dentro de um tubo de grafite aquecido eletricamente, dispensando assim o passo da nebulização (Analytical, 2020). Além do aumento de sensibilidade, há uma melhoria nos limites de detecção e uma redução do volume de amostra necessário (Tabela 5) (Sahin, 2019; Aggarwal *et al.*, 2022). No entanto, as análises são mais prolongadas, a operação técnica é mais complexa, a precisão é tipicamente inferior, os custos são mais elevados e há um maior risco de interferências da matriz da amostra (Pedersen-Bjergaard *et al.*, 2019).

A geração de hidretos é também um método eficaz e sensível para a determinação de As. Neste caso, o As é convertido em hidreto volátil (arsina, AsH₃, por reação com borohidreto de sódio em meio ácido), transportado para a célula de absorção aquecida onde ocorre a formação de vapor atômico e subsequente medição do valor de absorvância (Aggarwal *et al.*, 2022). Não há, igualmente perda de amostra por nebulização o que torna possível detetar níveis muito baixos de As e, em condições normais, apenas o analito forma espécie volátil, ou seja, minimiza-se o efeito de interferência de matriz. No entanto, há a necessidade de equipamento adicional para a geração de hidretos e cuidados acrescidos na preparação e manuseio das amostras (Pedersen-Bjergaard *et al.*, 2019)

No que diz respeito à determinação de Hg esta é efetuada por vaporização a frio pois devido a ter uma pressão de vapor apreciável não requer tratamentos térmicos especiais. Neste procedimento, o Hg é reduzido ao estado atómico (por adição de uma mistura oxidante de ácidos nítrico e sulfúrico ou permanganato, que converte o mercúrio a Hg^{2+} , seguido da sua redução Hg com uma mistura de sulfato de estanho) e transportado como vapor para a célula de absorção. O processo permite uma elevada seletividade e especificidade, mas necessita de equipamento especializado e etapas adicionais de pré-tratamento da amostra (Pedersen-Bjergaard *et al.*, 2019).

2.6.2. Espectroscopia de emissão ótica acoplada a plasma indutivo (ICP-OES)

A ICP-OES é amplamente usada na determinação de metais em amostras ambientais, amostras biológicas, águas, alimentos, etc. Tem por base o fenómeno de excitação térmica de átomos ou iões livres no estado gasoso e a subsequente emissão de radiação devido ao retorno das espécies excitadas ao estado de energia fundamental (Figura 2) (Pedersen-Bjergaard *et al.*, 2019).

A amostra é introduzida sob a forma de neblina/aerossol no plasma (uma nuvem de gás ionizado, geralmente árgon, constituído por eletrões, iões livres e átomos, cuja carga elétrica é nula, com temperaturas da ordem dos 6000 a 10000 °C), sendo a sua energia usada para vaporizar, dissociar, atomizar, ionizar e excitar os constituintes da amostra. Cada elemento emite depois radiação num conjunto discreto e característico de comprimentos de onda ao regressar a estados energéticos menores. A separação da radiação emitida nos vários comprimentos de onda que a constituem permite a quantificação simultânea de vários elementos na amostra, uma das grandes vantagens da emissão atómica em comparação com a EAA (Pedersen-Bjergaard *et al.*, 2019; Analytical, 2020).

Paralelamente à capacidade multielementar, e ainda em comparação com a EAA, a atomização é mais completa e as interferências químicas são essencialmente eliminadas devido às elevadas temperaturas do plasma. Os limites de deteção que se conseguem atingir são da mesma ordem de grandeza ou um pouco inferiores aos conseguidos por EAA em chama, mas mais elevados do que os alcançados com a atomização eletrotérmica (Tabela 5) (Pedersen-Bjergaard *et al.*, 2019; Analytical, 2020).

No entanto, tanto o custo da aquisição como o da manutenção do equipamento é bastante superior, a complexidade operacional do sistema é maior e subsistem problemas relacionados com as interferências de matriz, designadamente as físicas que podem alterar os processos de aspiração, de nebulização, de dessolvatação e de volatilização (Pedersen-Bjergaard *et al.*, 2019).

O ICP-OES apresenta ainda a desvantagem de ser uma técnica menos adequada à determinação de elementos mais voláteis (como o As).

2.6.3. Espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo (ICP-MS)

Atualmente a ICP-MS é uma técnica largamente utilizada na determinação simultânea de mais de 50 elementos em poucos minutos (Tabela 5) (Pedersen-Bjergaard *et al.*, 2019).

Tal como descrito na emissão atômica com ICP, as soluções de amostras são introduzidas no plasma por meio do nebulizador, e os átomos e iões formados no plasma são introduzidos no analisador de massas. A região de interface entre o ICP (que opera à pressão atmosférica) e o espectrómetro de massa (que funciona em vácuo) tem de assegurar que uma fração substancial dos iões produzidos é transportada para o MS e que o feixe introduzido apresenta aproximadamente a mesma composição iónica da região do plasma da qual foi extraído. Os iões são depois separados com base na sua razão massa/carga (m/z) e dirigidos para um detetor, permitindo a determinação de elementos em concentrações muito baixas, com elevada sensibilidade e tendo a capacidade de distinguir isótopos de um mesmo elemento (Figura 2) (Pedersen-Bjergaard *et al.*, 2019).

Esta técnica apresenta uma ampla faixa de trabalho e produz espectros que são, geralmente, mais simples e fáceis de serem interpretados que os espectros de emissão ótica e consistem numa série simples de picos de isótopos para cada elemento presente na amostra (Pedersen-Bjergaard *et al.*, 2019). Estes espectros são depois utilizados para identificar os elementos presentes na amostra e para a sua determinação quantitativa. Além da capacidade multielementar, característica das técnicas ICP, é possível detetar a maioria dos elementos em níveis abaixo de partes por bilião, limites equivalentes aos inferiores aos da EAA com atomização eletrotérmica (Tabela 5) (Sahin, 2019; Analytical, 2020).

O custo e manutenção do equipamento são muito elevados, requer operadores especializados e é suscetível a interferências de matriz, que exigem métodos de correção complexos (Pedersen-Bjergaard *et al.*, 2019).

Na Figura 3 estão resumidas algumas das principais características das metodologias usadas na análise dos MP. São apresentados os valores típicos de limites de detecção e o intervalo relativo de concentrações em que é possível obter resultados quantitativos (sendo que um intervalo maior, reduz os requisitos de manuseamento, minimizando potenciais erros) (Figura 3.a e 3.b, respetivamente). É ainda estabelecida uma comparação entre o tempo de análise *versus* o limite de detecção (Figura 3.c) e o desempenho relativo, do ponto de vista da sensibilidade em relação ao custo do investimento (Figura 3.d).

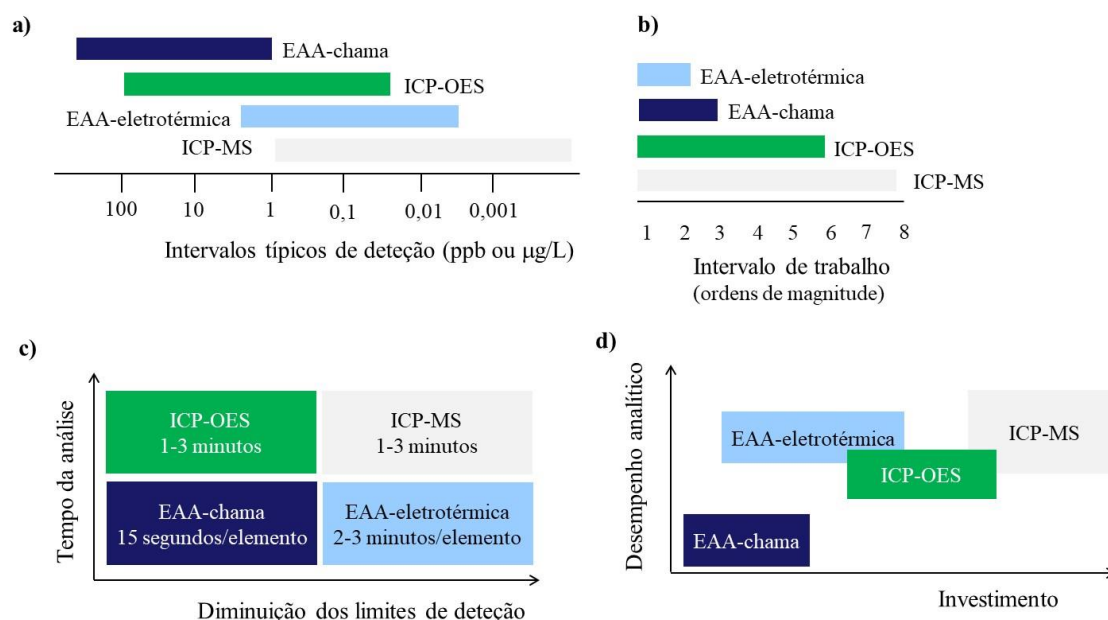


Figura 3. Principais características das técnicas de espectroscopia atômica para a quantificação de metais pesados. **(a)** Intervalos típicos dos limites de deteção; **(b)** Intervalos de trabalho analítico; **(c)** Tempo de análise *vs* limite de deteção e **(d)** Desempenho analítico (sensibilidade) em relação ao custo do equipamento (adaptada de Sahin, 2019; Analytical, 2020).

III. CONCLUSÃO

O leite e os produtos lácteos são alimentos com elevado valor nutricional sendo uma fonte rica em nutrientes essenciais, como cálcio, fósforo, proteínas de alta qualidade e várias vitaminas do complexo B. O consumo de leite e seus derivados pode ser uma parte importante de uma dieta equilibrada sendo recomendado por diversas entidades da área da saúde devido aos seus benefícios nutricionais, especialmente para a saúde óssea, desenvolvimento muscular e prevenção de doenças crônicas. Contudo, estes alimentos podem apresentar alguns contaminantes como metais pesados na sua constituição. Metais como chumbo, cádmio, mercúrio e arsénio, mesmo em quantidades vestigiais, podem acumular-se no organismo, provocando efeitos adversos graves, como toxicidade renal, distúrbios neurológicos, lesões hepáticas e problemas no desenvolvimento infantil.

A monitorização e quantificação dos níveis de MP em alimentos lácteos é, por isso, essencial para garantir que estes produtos permanecem seguros para consumo. Técnicas analíticas como a espectroscopia de absorção atômica, a espectroscopia de emissão ótica acoplada a plasma indutivo e a espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo, têm sido utilizadas para determinar a concentração destes contaminantes, permitindo que sejam comparados com os limites estabelecidos legalmente. A sua determinação pode ainda ser uma ferramenta útil para inferir sobre a qualidade ambiental dos ecossistemas onde os animais são criados e onde a produção agrícola ocorre e/ou a adequação dos métodos de processamento e os procedimentos de armazenamento.

Assim, a implementação de normas rigorosas e práticas de controlo de qualidade, aliadas à análise regular de MP em leite e seus derivados, é indispensável para assegurar que os produtos comercializados estejam dentro dos parâmetros de segurança estabelecidos. Continuar a investir no desenvolvimento de metodologias e inovações tecnológicas para melhorar a sensibilidade e a eficiência dessas análises é fundamental para enfrentar os desafios futuros da segurança alimentar, garantindo um monitoramento eficaz de substâncias potencialmente perigosas como os metais pesados.

IV. BIBLIOGRAFIA

- Aggarwal, A., Verma, T. e Ghosh, S. (2022). Heavy Metal Residues in Milk and Milk Products and Their Detection Method. In Y. El-Samragy (Ed.), *Heavy Metal Residues in Milk and Milk Products and Their Detection Method*, pp. 1-13.
- Akele, M. L. *et al.* (2017). Analysis of trace metal concentrations in raw cow's milk from three dairy farms in North Gondar, Ethiopia: chemometric approach. *Environ Monit Assess*, 189(10), pp. 499.
- Al Sidawi, R. *et al.* (2021). Heavy Metal Levels in Milk and Cheese Produced in the Kvemo Kartli Region, Georgia. *Foods*, 10(9), pp. 2234.
- Ali, H., Khan, E. e Ilahi, I. (2019). Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation. *Journal of Chemistry*, 2019, pp. 1-14.
- Ali, H., Khan, E. e Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals--concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), pp. 869-881.
- Alinezhad, Z., Hashemi, M. e Tavakoly Sany, S. B. (2024). Concentration of heavy metals in pasteurized and sterilized milk and health risk assessment across the globe: A systematic review. *PLoS One*, 19(2), pp. e0296649.
- Analytical, C. (2020). Comparison of Atomic Spectroscopy Techniques and the Advantages of ICP-MS vs AA & ICP-OES [Em linha]. Disponível em <<https://csanalytical.com/comparison-atomic-spectroscopy-techniques-advantages-icp-ms-vs-aa-icp-oes/>>. [Consultado em 02/07/2024].
- Antunovic, Z. *et al.* (2023). Essential Trace and Toxic Element Content in Lacaune Sheep Milk during Lactation. *Foods*, 12(23), pp. 4291.
- Anyanwu, B. O. *et al.* (2018). Heavy Metal Mixture Exposure and Effects in Developing Nations: An Update. *Toxics*, 6(4), pp. 65.
- Ayangbenro, A. S. e Babalola, O. O. (2017). A New Strategy for Heavy Metal Polluted Environments: A Review of Microbial Biosorbents. *Int J Environ Res Public Health*, 14(1), pp. 94.
- Bakircioglu, D. *et al.* (2018). Investigation of macro, micro and toxic element concentrations of milk and fermented milks products by using an inductively coupled plasma optical emission spectrometer, to improve food safety in Turkey. *Microchemical Journal*, 136, pp. 133-138.
- Balali-Mood, M. *et al.* (2021). Toxic Mechanisms of Five Heavy Metals: Mercury, Lead, Chromium, Cadmium, and Arsenic. *Front Pharmacol*, 12, pp. 643972.
- Barone, G. *et al.* (2018). Traditional Italian cheeses: Trace element levels and estimation of dietary intake. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66, pp. 205-211.

- Boudebbouz, A. *et al.* (2021). Heavy metals levels in raw cow milk and health risk assessment across the globe: A systematic review. *Sci Total Environ*, 751, pp. 141830.
- Castro-Bedrinana, J. *et al.* (2023). Lead, Cadmium, and Arsenic in Raw Cow's Milk in a Central Andean Area and Risks for the Peruvian Populations. *Toxics*, 11(10), pp. 809.
- Castro-Bedrinana, J. *et al.* (2021). Dietary risk of milk contaminated with lead and cadmium in areas near mining-metallurgical industries in the Central Andes of Peru. *Ecotoxicol Environ Saf*, 220, pp. 112382.
- Castro-Gonzalez, N. P. *et al.* (2018). Heavy metals in cow's milk and cheese produced in areas irrigated with waste water in Puebla, Mexico. *Food Addit Contam Part B Surveill*, 11(1), pp. 33-36.
- Chain, E. P. o. C. i. t. F. *et al.* (2024). Update of the risk assessment of inorganic arsenic in food. *EFSA J*, 22(1), pp. e8488.
- Chirinos-Peinado, D. M. e Castro-Bedrinana, J. I. (2020). Lead and cadmium blood levels and transfer to milk in cattle reared in a mining area. *Heliyon*, 6(3), pp. e03579.
- Christophoridis, C. *et al.* (2019). Determination of heavy metals and health risk assessment of cheese products consumed in Greece. *Journal of Food Composition and Analysis*, 82, pp. 103238.
- Dağcilar, K. e Gezer, C. (2021). Heavy metal residues in milk and dairy products produced in Northern Cyprus. *Progress in Nutrition*, 23, pp. e2021019.
- Dghaim, R. *et al.* (2015). Determination of heavy metals concentration in traditional herbs commonly consumed in the United Arab Emirates. *J Environ Public Health*, 2015, pp. 973878.
- Ding, Q. *et al.* (2021). Electrochemical detection of heavy metal ions in water. *Chem Commun (Camb)*, 57(59), pp. 7215-7231.
- Djamgoz, M. B. A. *et al.* (2017). Cancer in North Cyprus: 1. Current Status, An Overview. *Cyprus Journal of Medical Sciences*, 2(1), pp. 9-12.
- EFSA, E. F. S. A.-. (2012a). Cadmium dietary exposure in the European population. *EFSA Journal*, 10(1), pp. 2551.
- EFSA, E. F. S. A.-. (2012b). Lead dietary exposure in the European population. *EFSA Journal*, 10(7), pp. 2831.
- EFSA, E. F. S. A.-. (2012c). Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. *EFSA Journal*, 10(12), pp. 2985.
- EFSA, E. F. S. A.-. (2014). Dietary exposure to inorganic arsenic in the European population. *EFSA Journal*, 12(3), pp. 3597.

- Elafify, M. *et al.* (2023). Heavy metal residues in milk and some dairy products with insight into their health risk assessment and the role of *Lactobacillus rhamnosus* in reducing the lead and cadmium load in cheese. *Food Chemistry Advances*, 2, pp. 100261.
- Esposito, M. *et al.* (2017). Trace elements in raw milk of buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Campania, Italy. *Food Chem*, 233, pp. 378-384.
- FAO, F. a. A. O. o. t. U. N.-. (2019). Dairy and dairy products - OECD-FAO agricultural outlook 2019-2028 [Em linha]. Disponível em <<https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/2577ae88-f8de-4a5d-a931-4c4d6ba5aac3/content>>. [Consultado em 28/06/2024].
- FAO, F. a. A. O. o. t. U. N.-. (2023). Milk and Dairy Products in Human Nutrition- Questions and Answers [Em linha]. Disponível em <https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/newsroom/docs/Milk%20and%20Dairy%20Q&A.pdf>. [Consultado em 28/06/2024].
- FAO, F. a. A. O. o. t. U. N.-. (2024). Gateway to dairy production and products [Em linha]. Disponível em <<https://www.fao.org/dairy-production-products/products/en/>>. [Consultado em 28/06/2024].
- Genchi, G. *et al.* (2020). The Effects of Cadmium Toxicity. *Int J Environ Res Public Health*, 17(11), pp. 3782.
- INE, I. N. d. E.-. (2023). Consumo humano de leite e produtos lácteos per capita (kg/hab.) [Em linha]. Disponível em <https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorCod=0000214&contexto=bd&selTab=tab2&xlang=pt>. [Consultado em 28/06/2024].
- Jaafarzadeh, N. *et al.* (2023). Non-carcinogenic risk assessment of cadmium and lead in raw milk from dairy production farms in Iran, using Monte Carlo simulation approach. *Journal of Food Composition and Analysis*, 115, pp. 104864.
- Jolly, Y. N. *et al.* (2017). Energy dispersive X-ray fluorescence detection of heavy metals in Bangladesh cows' milk. *Heliyon*, 3(9), pp. e00403.
- Kafouris, D. *et al.* (2024). Lead, cadmium and mercury determination and human health risk assessment in foods from Cyprus. *Journal of Food Composition and Analysis*, 128, pp. 1-11.
- Kamal, G. M. *et al.* (2022). The determination of potentially toxic elements (PTEs) in milk from the Southern Cities of Punjab, Pakistan: A health risk assessment study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 108, pp. 104446.
- Khan, K. *et al.* (2014). Evaluation of toxicological risk of foodstuffs contaminated with heavy metals in Swat, Pakistan. *Ecotoxicol Environ Saf*, 108, pp. 224-232.
- Li, S. *et al.* (2018). Electrochemical microfluidics techniques for heavy metal ion detection. *Analyst*, 143(18), pp. 4230-4246.

- Mazzocco, J. C. *et al.* (2020). Disruption of essential metal homeostasis in the brain by cadmium and high-fat diet. *Toxicol Rep*, 7, pp. 1164-1169.
- Monteverde, V. *et al.* (2022). Heavy Metal Levels in Milk and Serum of Dairy Cows from Different Farms Located near an Industrial Area. *Animals (Basel)*, 12(19), pp. 2574.
- Nastasescu, V. *et al.* (2020). Heavy metal and pesticide levels in dairy products: Evaluation of human health risk. *Food Chem Toxicol*, 146, pp. 111844.
- Norouzirad, R. *et al.* (2018). Lead and cadmium levels in raw bovine milk and dietary risk assessment in areas near petroleum extraction industries. *Sci Total Environ*, 635, pp. 308-314.
- ONU, O. d. N. U.-. (2014). Criado novo limite para presença de chumbo nas fórmulas de leite [Em linha]. Disponível em <<https://news.un.org/pt/story/2014/07/1480081#:~:text=A%20partir%20de%20a%20gora%20C%20o,mg%20por%20kg%20de%20alimento>>. [Consultado em 10/09/2024].
- Özbay, S., Dikici, E. e Soylukan, C. (2023). Evaluation of biological (feed, water), seasonal, and geological factors affecting the heavy metal content of raw milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 121, pp. 105401.
- Paixao, L. B. *et al.* (2019). Assessment of cadmium and lead in commercial coconut water and industrialized coconut milk employing HR-CS GF AAS. *Food Chem*, 284, pp. 259-263.
- Pedersen-Bjergaard, S., Gammelgaard, B. e Halvorsen, T. G. (2019). *Introduction to Pharmaceutical Analytical Chemistry*. Wiley. ISBN 9781119362739.
- Pekou, A., Manousi, N. e Zachariadis, G. A. (2022). Multielemental Method for Maternal Breast Milk Analysis by Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES) and Acid Digestion. *Analytical Letters*, 56(1), pp. 14-24.
- Pérez-Carrera, A. L., Arellano, F. E. e Fernández-Cirelli, A. (2016). Concentration of trace elements in raw milk from cows in the southeast of Córdoba province, Argentina. *Dairy Science & Technology*, 96(5), pp. 591-602.
- Qu, X. Y. *et al.* (2018). Analysis and Risk Assessment of Seven Toxic Element Residues in Raw Bovine Milk in China. *Biol Trace Elem Res*, 183(1), pp. 92-101.
- Rafiq, A. *et al.* (2022). Evaluation of Potentially Toxic Trace Metals and Associated Health Risk Assessment in Buffalo Milk. *Int J Environ Res Public Health*, 19(22), pp. 14678.
- Rehman, K. *et al.* (2018). Prevalence of exposure of heavy metals and their impact on health consequences. *J Cell Biochem*, 119(1), pp. 157-184.

- Ribeiro Sant'Ana, M. A., de Carvalho, T. C. e da Silva, I. F. (2021). Concentration of heavy metals in UHT dairy milk available in the markets of Sao Luis, Brazil, and potential health risk to children. *Food Chem*, 346, pp. 128961.
- Sahin, D. (2019). Atomic Spectroscopy. M. Khan, G. M. Nascimento e M. El-Azazy (Eds.), *Modern Spectroscopic Techniques and Applications*, pp. 1-13.
- Scutarasu, E. C. e Trinca, L. C. (2023). Heavy Metals in Foods and Beverages: Global Situation, Health Risks and Reduction Methods. *Foods*, 12(18), pp. 3340.
- Sharafi, K. et al. (2019). A systematic literature review for some toxic metals in widely consumed rice types (domestic and imported) in Iran: Human health risk assessment, uncertainty and sensitivity analysis. *Ecotoxicol Environ Saf*, 176, pp. 64-75.
- Silalahi, E. M., Lioe, H. N. e Faridah, D. N. (2023). Heavy Metals Cd, Hg, and Pb in Fresh Milk from Dairy Farms in South Jakarta Analyzed by ICP-MS. *Tropical Animal Science Journal*, 46(4), pp. 502-508.
- Suturovic, Z. et al. (2014). Determination of heavy metals in milk and fermented milk products by potentiometric stripping analysis with constant inverse current in the analytical step. *Food Chem*, 155, pp. 120-125.
- Tinkov, A. A. et al. (2018). Cadmium and atherosclerosis: A review of toxicological mechanisms and a meta-analysis of epidemiologic studies. *Environ Res*, 162, pp. 240-260.
- Tyler, C. R. e Allan, A. M. (2014). The Effects of Arsenic Exposure on Neurological and Cognitive Dysfunction in Human and Rodent Studies: A Review. *Curr Environ Health Rep*, 1(2), pp. 132-147.
- UE, U. E.-. (2018). Regulamento (UE) 2018/73 da Comissão Europeia de 16 de janeiro de 2018 que altera os anexos II e III do Regulamento (CE) n.º 396/2005 do Parlamento Europeu e do Conselho no que se refere aos limites máximos de resíduos de compostos de mercúrio no interior e à superfície de certos produtos [Em linha]. Disponível em <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018R0073>>. [Consultado em 28/06/2024].
- UE, U. E.-. (2023a). Regulamento (UE) 2023/465 da Comissão Europeia de 3 de março de 2023 que altera o Regulamento (CE) n.º 1881/2006 no que diz respeito aos teores máximos de arsénio em determinados alimentos [Em linha]. Disponível em <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32023R0465&from=PT>>. [Consultado em 28/06/2024].
- UE, U. E.-. (2023b). Regulamento (UE) 2023/915 da Comissão Europeia de 25 de abril de 2023 relativo aos teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios [Em linha]. Disponível em <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32023R0915>>. [Consultado em 28/06/2024].

- Wani, A. L., Ara, A. e Usmani, J. A. (2015). Lead toxicity: a review. *Interdiscip Toxicol*, 8(2), pp. 55-64.
- Yan, M. *et al.* (2022). Heavy metal levels in milk and dairy products and health risk assessment: A systematic review of studies in China. *Sci Total Environ*, 851(Pt 1), pp. 158161.
- Zharykbasov, Y. *et al.* (2023). Studying the concentration of xenobiotics in milk and developing the biosensor method for their rapid determination. *Heliyon*, 9(8), pp. e19026.
- Zhou, X. *et al.* (2019a). Large scale study of the within and between spatial variability of lead, arsenic, and cadmium contamination of cow milk in China. *Sci Total Environ*, 650(Pt 2), pp. 3054-3061.
- Zhou, X. *et al.* (2019b). Relationships between Pb, As, Cr, and Cd in individual cows' milk and milk composition and heavy metal contents in water, silage, and soil. *Environ Pollut*, 255(Pt 2), pp. 113322.
- Zwierzchowski, G. e. A., B. N. (2019). Mineral Elements in the Raw Milk of Several Dairy Farms in the Province of Alberta. *Foods*, 8(8), pp. 345.